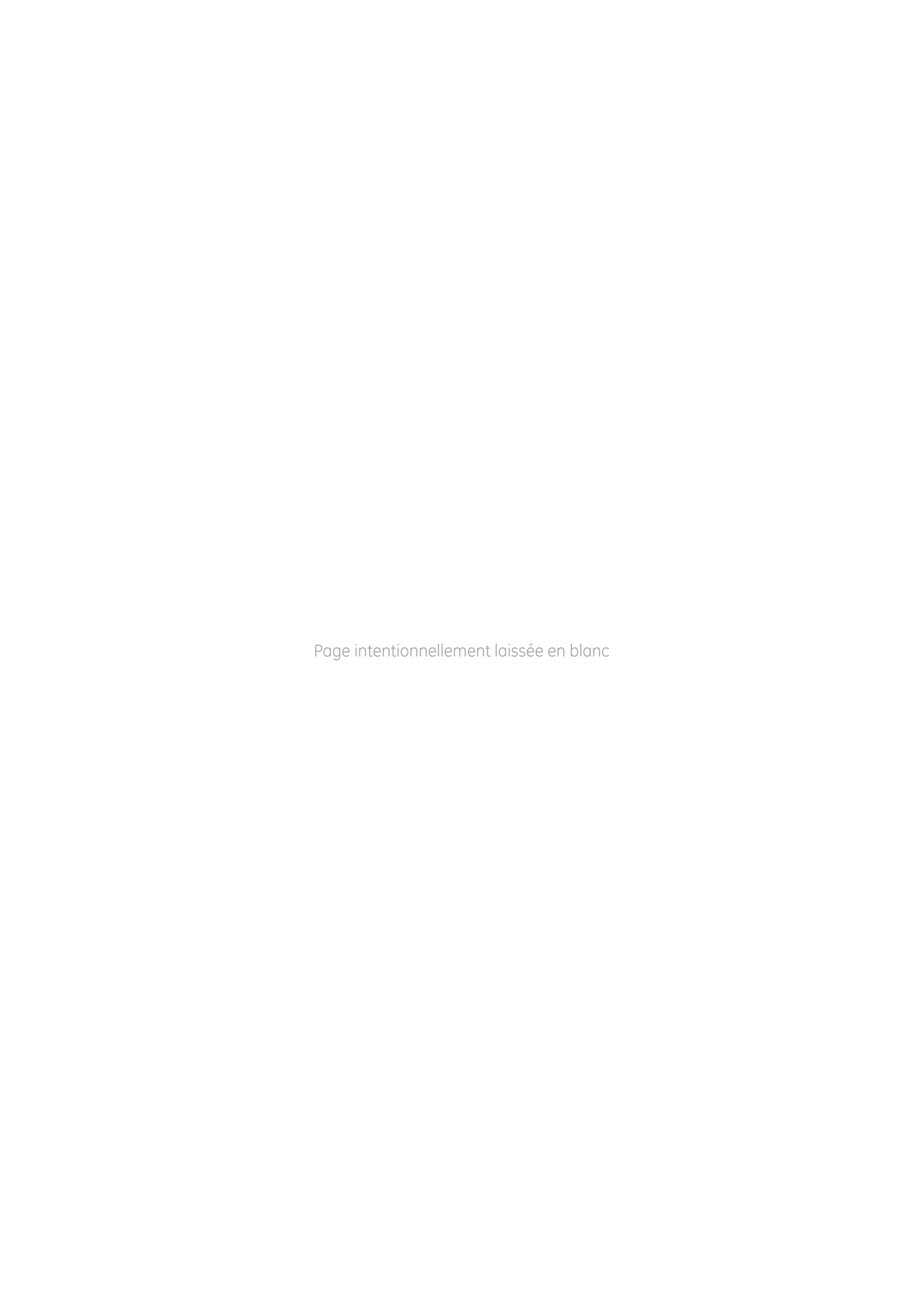
Amersham™ WB system

Mode d'emploi

Traduit de l'anglais







Page intentionnellement laissée en blanc

Table des matières

1 Introduction

Le Amersham WB system

Le Amersham WB system est un système intégré d'analyse des protéines de type SDS PAGE et transfert de type Western basé sur la détection de la fluorescence. Les étapes d'électrophorèse, balayage, transfert et sondage automatique sont toutes réalisées par le même système. Des réactifs pour le prémarquage, la détection des anticorps ainsi que des consommables de type gel et membrane sont disponibles.

Le Amersham WB system comprend l'instrument, le Amersham WB analyzer, Amersham WB software (logiciel), ainsi que les accessoires et les consommables. Le Amersham WB analyzer est constitué de deux unités, l'unité Amersham WB elpho & scan et l'unité Amersham WB western.

Le système prend en charge de nombreuses applications, depuis un dépistage rapide de la composition protéique ou abondance jusqu'à des analyses quantitatives avancées de comparaisons des niveaux protéiques entre échantillons. Les protéines peuvent être prémarquées avec le réactif coloré Amersham WB Cy™5 puis être, par conséquent, directement détectées dans le gel après électrophorèse. Au cours des transferts de type Western , des échantillons protéiques non marqués ou prémarqués par le Cy5 sont transférés vers des membranes et les protéines cibles peuvent être détectées à l'aide de Cy3 et/ou Cy5 d'anticorps secondaires conjugués. La détection basée sur la fluorescence permet une sensibilité élevée et une vaste gamme dynamique ainsi qu'une analyse multiplexée de la même membrane de transfert Western.

L'analyse multiplexée des protéines totales prémarquées avec le Cy5 et de la cible détectée avec les anticorps secondaires conjugués marqués par le Cy3 permet la normalisation des signaux cibles en utilisant les protéines totales de chaque canal. Le logiciel Amersham WB software, intégré au système, facile à utiliser, permet le contrôle des différentes étapes du flux de travail ainsi que l'évaluation automatique ou manuelle de vos résultats.

La liste traduite de noms des accessoires et des consommables se trouve à *Section 7.4 Traductions des accessoires et des consommables, en page 226*.

Dans ce chapitre

Ce chapitre contient les sections suivantes :

1.1 À propos de ce mode d'emploi

Objectif de ce manuel

Le *Mode d'emploi* vous fournit les instructions nécessaires à l'installation, au fonctionnement et à l'entretien du Amersham WB system en toute sécurité.

Portée de ce manuel

Le *Mode d'emploi* comporte les informations suivantes :

- des informations en matière de réglementation et de sécurité
- une description du système, de ses accessoires et des consommables utilisés avec le système
- des informations en matière d'installation
- des informations en matière d'exécution d'un analyse en toute sécurité
- des instructions en matière de maintenance par l'utilisateur
- des spécifications et des informations de référence supplémentaires

Conventions typographiques

Les éléments du logiciel sont identifiés dans le texte par des caractères ***italiques gras***. Deux points séparent les niveaux de menu, ainsi ***File:Open*** renvoie à la commande ***Open*** dans le menu ***File***.

Les éléments matériels sont identifiés dans le texte par des caractères **en gras** (par ex., commutateur **Power**).

1.2 Informations importantes pour l'utilisateur

Lire ceci avant de faire fonctionner le Amersham WB analyzer



Tous les utilisateurs doivent lire l'intégralité du *Mode d'emploi* avant d'installer, d'utiliser ou d'entretenir l'instrument. Toujours garder le *Mode d'emploi* à portée de main quand vous faites fonctionner le Amersham WB analyzer.

Ne pas faire fonctionner le Amersham WB analyzer d'une autre manière que celle qui est décrite dans le manuel d'utilisation.
Dans le cas contraire, vous pouvez être exposé à des dangers pouvant entraîner des blessures corporelles ou endommager l'appareil.

Utilisation prévue

Le Amersham WB system est un système d'électrophorèse des protéines et de transfert de type Western qui comporte le balayage des plaques de gel et de PVDF. Les protéines peuvent être prémarquées avec du Cy5 et peuvent être directement détectées dans le gel après électrophorèse. Lors des transferts de type Western, les protéines non marquées ou prémarquées avec du Cy5 sont transférées vers les membranes et les protéines cibles peuvent être détectées à l'aide d'anticorps secondaires conjugués Cy3 et/ou Cy5. La détection basée sur la fluorescence confère une sensibilité élevée, une gamme dynamique étendue et permet une analyse multiplexée de la même membrane de transfert Western.

Amersham WB system est destiné à des fins de recherche uniquement et ne doit pas être utilisé dans le cadre de procédures cliniques ou à des fins diagnostiques.

Conditions préalables

Afin d'utiliser le système de la façon prévue, les conditions préalables suivantes doivent être remplies :

- Vous devez disposer d'une compréhension générale du fonctionnement d'un PC et de Microsoft® Windows®.
- Vous devez connaître les concepts de l'électrophorèse et du transfert de type Western.

- L'instrument et le logiciel doivent être installés conformément aux instructions d'*Chapitre 4 Installation, en page 91*.

Astuce : *Pour en savoir plus sur les principes et les méthodes de transfert de type Western et pour des directives sur la manière de réaliser avec succès des transferts de type Western, téléchargez ou commandez le manuel, Western Blotting – Principles and Methods 28-9998-97, à www.gelifesciences.com.*

Consignes de sécurité

Ce manuel d'utilisation contient des avis de sécurité (AVERTISSEMENT, MISE EN GARDE et AVIS) sur l'utilisation en toute sécurité du produit. Voir les définitions ci-dessous.



AVERTISSEMENT

AVERTISSEMENT indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner le décès ou de graves blessures. Il est important de ne pas continuer avant que toutes les conditions établies ne soient réunies et clairement comprises.



MISE EN GARDE

MISE EN GARDE indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des blessures légères ou peu graves. Il est important de ne pas continuer avant que toutes les conditions établies ne soient réunies et clairement comprises.



AVIS

AVIS indique des instructions devant être suivies afin de ne pas endommager le produit ou d'autres équipements.

Remarques et astuces

Remarque : *Une remarque est utilisée pour indiquer une information importante pour une utilisation optimale et sans problème du produit.*

Astuce : *Une astuce contient des informations pratiques pouvant améliorer ou optimiser les procédures.*

1.3 Informations réglementaires

Introduction

Cette section décrit les directives et les normes auxquelles le Amersham WB system est conforme.

Informations sur la fabrication

Le tableau ci-dessous résume les informations requises sur la fabrication. Pour plus d'informations, voir le document Déclaration de conformité (DoC) UE.

Exigence	Contenu
Nom et adresse du fabricant	GE Healthcare Bio-Sciences AB, Björkgatan 30, SE 751 84 Uppsala, Sweden

Conformité avec les directives UE

Ce produit est conforme aux directives européennes citées dans le tableau, en répondant aux normes harmonisées correspondantes.

Directive	Titre
2006/42/CE	Directive Machines (DM)
2004/108/CE	Directive Compatibilité électromagnétique (CEM)
2006/95/CE	Directive Basse tension (DBT)

Marquage CE



Le marquage CE et la Déclaration de conformité UE correspondante sont valides pour l'instrument lorsqu'il est :

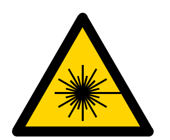
- Utilisé comme unité indépendante, ou
- Connecté à d'autres produits recommandés ou décrits dans le manuel d'utilisation, et
- Utilisé dans le même état que celui dans lequel il a été livré par GE, sauf en ce qui concerne les altérations décrites dans le manuel d'utilisation.

Normes internationales

Les exigences en matière de normes auxquelles ce produit est conforme sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Norme	Description	Remarques
EN/CEI 61010-1, UL 61010-1, CAN/CSA-C22.2 No. 1010.1	Exigences de sécurité pour les équipements électriques destinés à la mesure, au contrôle et à l'utilisation en laboratoire.	La norme EN est harmonisée avec la directive européenne 2006/95/CE.
EN/CEI61326-1 (Émission d'après CISPR 11, Groupe 1, classe A)	Appareil électrique pour la mesure, le contrôle et l'utilisation en laboratoire - Exigences EMC	La norme EN est harmonisée avec la directive européenne 2004/108/CE.
EN ISO 12100	Sécurité des machines. Principes généraux de conception. Évaluation et réduction des risques.	La norme EN ISO est harmonisée avec la directive européenne 2006/42/CE.
EN/CEI 60825-1	Sécurité des produits laser.	La norme EN est harmonisée avec la directive européenne 2006/95/CE.

Normes et réglementations pour les lasers



Cet appareil est un produit laser de classe 1 (CEI 60825-1:2007/EN 60825-1:2007).

Cet instrument se conforme aux caractéristiques de sécurité du rayonnement laser spécifiées par le Code of the Federal Regulations (TITRE 21 CFR, chapitre 1, sous-chapitre J, Partie 1040-10 Produits laser).

Conformité FCC

Cet équipement est conforme à la partie 15 des Normes FCC. Le fonctionnement est soumis aux deux conditions suivantes : (1) Cet équipement ne doit pas causer d'interférences nocives et (2) doit accepter toutes les interférences reçues, y compris les interférences pouvant provoquer un fonctionnement non souhaité.

Remarque : *L'utilisateur est mis en garde que toute modification non expressément approuvée par GE pourrait annuler l'autorité de l'utilisateur de faire fonctionner l'équipement.*

Cet équipement a été testé et s'est avéré conforme aux limites d'un appareil numérique de classe A, conformément à la partie 15 des Normes FCC. Ces limites sont conçues pour offrir une protection raisonnable contre le brouillage nuisible lorsque l'équipement fonctionne dans un environnement commercial. Cet équipement engendre, utilise et peut émettre une énergie en radiofréquence et, s'il n'est pas installé et utilisé selon le manuel d'instruction, il peut brouiller de manière nuisible les communications radio. Le fonctionnement de cet équipement dans une zone résidentielle peut également provoquer un brouillage nuisible, auquel cas l'utilisateur devra corriger le brouillage à ses propres frais.

Conformité environnementale

Réglementation	Titre
2011/65/EU	Directive Limitation de l'utilisation des substances dangereuses (LdSD)
2012/19/UE	Directive Déchets d'équipements électriques et électroniques (WEEE)
Réglementation (CE) n°1907/2006	Enregistrement, Évaluation, Autorisation et limitation de Produits chimiques (REACH)

Réglementation	Titre
ACPEIP	Administration du contrôle de la pollution causée par les composants électroniques, Limitation de l'utilisation des substances dangereuses (LdSD) pour la Chine

Conformité réglementaire des équipements connectés

Tout appareil connecté au Amersham WB analyzer doit répondre aux exigences de sécurité IEC/EN/UL/CSA 61010-1, IEC/EN/UL/CSA 60950-1 ou autres réglementations et normes nationales pertinentes.

L'appareil doit être installé et utilisé conformément aux instructions du fabricant. Dans l'UE, l'appareil connecté doit porter le marquage CE.

1.4 Amersham WB Documentation du system

Introduction

Cette section décrit le manuel d'utilisation et la documentation associée au Amersham WB system.

Mode d'emploi

Le tableau ci-dessous récapitule le manuel d'utilisation fourni avec le Amersham WB system:

Document	Contenu principal	Disponibilité
Amersham WB analyzer Instructions relatives au déballage	Ces instructions décrivent comment déballer le Amersham WB analyzer.	À l'intérieur de la caisse de livraison du Amersham WB analyzer.
Amersham WB system Mode d'emploi	Ce manuel contient des informations nécessaires pour : • installer, manipuler et entretenir le Amersham WB system en toute sécurité • exécuter une analyse typique en toute sécurité Il contient également des informations réglementaires et de sécurité, une description du système et des informations de référence.	Une version imprimée en anglais est livrée avec le système. Des versions traduites sont disponibles sous forme de fichiers PDF sur le CD Manuel d'utilisation.

Document	Contenu principal	Disponibilité
Amersham WB system User Manual	Ce manuel contient des informations nécessaires pour : • faire fonctionner et entretenir le Amersham WB system en toute sécurité • planifier, exécuter et évaluer les analyses par électrophorèse et par transfert de type Western • dépanner le système et les résultats Il contient également une description du système, des informations de référence et des informations relatives à la commande.	Intégré au Amersham WB software en tant que manuel HTML dans le menu Aide. Également disponible sous forme de fichier PDF sur le CD Manuel d'utilisation.
Amersham WB software Help	Le Amersham WB software Help contient des informations sur : • les flux de travail des utilisateurs pour exécuter des analyses par électrophorèse et par transfert de type Western • des descriptions du logiciel • des liens vers le Amersham WB system User Manual pour obtenir des informations détaillées sur la manipulation de l'instrument, de ses accessoires et consommables	Intégré au Amersham WB software (dans le volet droit du logiciel).

Manuel des méthodes

Le manuel *Western Blotting – Principles and Methods* donne des directives relatives à la totalité du flux de travail d'un transfert de type Western. Il décrit les aspects théoriques et pratiques de la technique, ainsi que des conseils et des astuces utiles. L'objet de ce manuel est de guider et d'inspirer les débutants aussi bien que les experts vers de transferts réussis de type Western.

Télécharger ou commander le manuel, *Western Blotting – Principles and Methods* 28-9998-97, à www.gelifesciences.com.

Fichiers de données et notes d'application

Les fichiers de données et les notes d'application peuvent être commandés ou téléchargés à www.gelifesciences.com.

2 Consignes de sécurité

À propos de ce chapitre

Ce chapitre décrit les précautions de sécurité ainsi que les procédures d'arrêt d'urgence du Amersham WB system. Les étiquettes sur les instruments ainsi que les informations concernant leur recyclage sont également décrites.

Dans ce chapitre

Ce chapitre comporte les sections suivantes :

2.1 Consignes de sécurité

Introduction

Le Amersham WB analyzer est alimenté par la tension secteur et utilise des liquides susceptibles d'être dangereux. Avant d'installer, de faire fonctionner ou d'entretenir les unités de l'instrument, vous devez avoir pris connaissance des dangers décrits dans ce manuel.

Toujours respecter les réglementations locales et les instructions pendant le fonctionnement, la maintenance du système et la manipulation des produits chimiques en toute sécurité.

Respecter les instructions fournies afin d'éviter les blessures corporelles et d'endommager l'appareil.

Les consignes de sécurité de cette section sont regroupées dans les catégories suivantes :

- Consignes générales
- Liquides inflammables
- Protection individuelle
- Installation et déplacement
- Utilisation du système
- Maintenance
- Déclassement

Consignes générales



AVERTISSEMENT

Utiliser Amersham WB analyzer uniquement selon les instructions contenues dans Mode d'emploi.



AVERTISSEMENT

N'utiliser aucun accessoire non fourni ou recommandé par GE.



AVERTISSEMENT

Ne pas utiliser le Amersham WB analyzer s'il ne fonctionne pas correctement ou s'il est endommagé. Par exemple :

- le cordon électrique ou la prise est endommagé(e)
- l'appareil est tombé et s'est endommagé
- les dommages touchant d'autres parties qui peuvent affecter le fonctionnement

Liquides inflammables



MISE EN GARDE

Risque d'incendie.

- Si un liquide a été déversé à l'extérieur du boîtier du système Elpho & scan ou Western, débrancher l'alimentation électrique et essuyer le liquide.
- Si un liquide a été déversé sur les éléments de l'instrument et pénétré dans le boîtier du système Elpho & scan ou Western, débrancher l'alimentation électrique des appareils et contacter le service d'entretien.



MISE EN GARDE

Risque d'incendie. Avant de lancer une analyse, s'assurer que la tubulure des déchets du système Western se dirige vers le flacon des déchets qui se trouve sous la paillasse et de l'absence de fuites. Un flacon des déchets vide d'au moins 4 l est nécessaire.



MISE EN GARDE

Risque d'incendie. Ne pas utiliser de solutions tampon de transfert comportant plus de 40 % d'éthanol ou plus de 40 % de méthanol. Il est recommandé d'utiliser uniquement 20 % d'éthanol dans les tampons de transfert.

Protection individuelle



AVERTISSEMENT

Toujours porter des gants, des vêtements et des lunettes de protection pendant la manipulation des plaques de gel, des plaques PVDF et des autres consommables fournis avec le Amersham WB system.



AVERTISSEMENT

En cas de prémarquage d'échantillons de protéines :

- Toujours porter des gants, des vêtements et des lunettes de protection.
- Lire la Fiche de données de sécurité (SDS/MSDS) avant de procéder au prémarquage des échantillons.



AVERTISSEMENT

Le Amersham WB analyzer est un produit de classe A. Dans un environnement domestique, il peut produire des perturbations radio-électriques ; dans ce cas, l'utilisateur devra prendre les mesures appropriées.



MISE EN GARDE

Substances dangereuses. Lors de l'utilisation de substances chimiques ou d'agents biologiques dangereux, prendre toutes les mesures de protection appropriées, telles que le port de lunettes de sécurité et de gants résistant aux substances utilisées. Suivre les réglementations locales et/ou nationales pour une utilisation, une maintenance et un déclassement sûrs de l'appareil.



MISE EN GARDE

Quand le prémarquage des protéines dans les échantillons a été réalisé, une forte odeur peut provenir des traces de sulfure de diméthyle (DMS) et de diméthylsulfoxyde (DMSO). Une ventilation locale par aspiration peut être nécessaire. Respecter les réglementations locales et les instructions pour une utilisation en toute sécurité.



MISE EN GARDE

Toujours porter des gants, des vêtements et des lunettes de protection lors de l'utilisation et l'entretien du Amersham WB analyzer.



MISE EN GARDE

Équipement de protection individuelle (EPI). En cas d'emballage, déballage, transport ou déplacement du système, porter :

- des chaussures de sécurité, de préférence avec une doublure en acier
- des gants de travail protégeant contre les arêtes tranchantes.
- Lunettes de protection

Installation et déplacement



AVERTISSEMENT

Placer le Amersham WB analyzer dans une pièce disposant d'une ventilation par aspiration si du méthanol ou d'autres produits chimiques nécessitant une ventilation sont utilisés.



AVERTISSEMENT

Tension d'alimentation. S'assurer que la tension d'alimentation au niveau de la prise murale correspond au marquage de l'instrument avant de connecter le cordon d'alimentation.



AVERTISSEMENT

S'assurer que le système est placé sur un banc uniforme et stable avec un espace approprié pour la ventilation.



AVERTISSEMENT

Ne pas bloquer l'accès à l'interrupteur et au cordon d'alimentation. L'interrupteur électrique doit toujours être facilement accessible. Le cordon d'alimentation doté d'une prise doit toujours être facile à débrancher.



AVERTISSEMENT

Mise à la terre de sécurité et cordon d'alimentation.

Le Amersham WB analyzer doit toujours être raccordé à une prise électrique mise à la terre.

Utiliser uniquement un cordon d'alimentation à 3 fils fourni ou homologué par GE, ou conforme aux exigences de la réglementation électrique locale en vigueur.



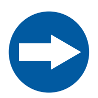
MISE EN GARDE

Ne jamais déplacer le Western avec les flacons posés sur l'instrument.



MISE EN GARDE

Objet lourd. Deux personnes sont nécessaires pour soulever l'instrument en toute sécurité.



AVIS

Tout ordinateur utilisé avec l'instrument doit être conforme à la norme IEC/EN/UL/CSA 60950-1 ou autres réglementations en matière de sécurité. Il doit être installé et utilisé conformément aux instructions du fabricant.



AVIS

Débrancher les câbles. Pour éviter que l'équipement ne subisse des dommages, débrancher toujours les câbles avant de déplacer un instrument.

Utilisation du système



AVERTISSEMENT

Explosion de la vitre. Ne pas faire fonctionner le système si la vitre du couvercle d'étanchéité de l'appareil Elpho & scan est rayée ou cassée. Mettre l'instrument hors tension, débrancher le cordon d'alimentation et contacter un technicien de maintenance agréé.



AVERTISSEMENT

Risque de choc électrique après un déversement pendant une analyse. S'il existe un risque de voir se déverser du liquide dans le boîtier du Amersham WB analyzer, mettre immédiatement l'instrument hors tension, débrancher le cordon d'alimentation et contacter un technicien de maintenance agréé.



AVERTISSEMENT

Après l'électrophorèse ou après le transfert (quand le sandwich de transfert a été ouvert et que la plaque PVDF a été placée dans le compartiment de sondage), mettre le gel au rebut en toute sécurité. Lire la Fiche de données de sécurité (SDS/MSDS) de la plaque de gel dans laquelle figurent les instructions concernant le gel et sa mise au rebut.



MISE EN GARDE

Parties mobiles. Veiller lors de l'ouverture/de la fermeture du chargeur à ce que vos doigts ou vos vêtements ne soient pas coincés quand le chargeur se déplace.

Ne jamais placer de bouteilles ou de flacons devant l'appareil Elpho & scan. Ils sont susceptibles de tomber quand le chargeur est ouvert.



MISE EN GARDE

Risque de choc électrique. Toujours arrêter le transfert en cours avant d'essuyer le liquide sur l'instrument ou la paillasse.



MISE EN GARDE

Risque de pincement. Ne pas toucher la chambre de sondage mobile pendant une analyse.



MISE EN GARDE

Ne retirer aucun des capots de l'appareil Elpho & scan. Un laser de classe 3B se trouve à l'intérieur de celui-ci.



MISE EN GARDE

Pour éviter les éclaboussures de liquides dangereux, utiliser des filtres d'entrée lourds reliés aux tubulures des flacons.



AVIS

Ne pas utiliser de produits chimiques autres que ceux qui figurent dans la notice Résistance chimique.

Maintenance



AVERTISSEMENT

Risque de choc électrique Toutes les réparations doivent être réalisées par un personnel agréé par GE. Ne pas ouvrir de capots ou remplacer des pièces sauf mention spécifique dans le manuel d'utilisation.



AVERTISSEMENT

Débrancher l'alimentation. Toujours débrancher l'alimentation de l'instrument avant de remplacer un de ses composants, sauf mention contraire dans le manuel d'utilisation.



AVERTISSEMENT

Retirer tous les flacons du porte-flacons avant d'ouvrir le couvercle du compartiment d'entretien.



AVERTISSEMENT

Lors de l'utilisation de substances chimiques dangereuses, éviter tout déversement et porter des lunettes de sécurité et d'autres équipements de protection individuelle appropriés. Par exemple, la solution NaOH est corrosive et, par conséquent, dangereuse pour la santé.



AVERTISSEMENT

Seuls les pièces de rechange et accessoires approuvés ou fournis par GE peuvent être utilisés pour la maintenance ou les réparations du système.



AVERTISSEMENT

En cas de remplacement d'un cordon d'alimentation endommagé, utiliser un cordon du même type, de même dimension, conforme à toutes les exigences en vigueur du code électrique local et approuvées par GE.



AVERTISSEMENT

Toujours débrancher l'alimentation secteur avant de remplacer le fusible du secteur. Pour une protection continue contre le risque d'incendie, ne remplacer un fusible que par un fusible du même type comme indiqué sur le étiquettes de l'instrument.



MISE EN GARDE

Lors de l'utilisation de substances chimiques dangereuses, prendre toutes les mesures de protection appropriées (port de lunettes de sécurité et de gants résistants aux substances chimiques utilisées). Suivre les réglementations et instructions locales pour une utilisation et une maintenance du système en toute sécurité.

Entretien



AVERTISSEMENT

Décontaminer l'appareil avant l'entretien pour s'assurer que tous les résidus dangereux ont été éliminés.

Déclassement



AVERTISSEMENT

Décontaminer l'appareil avant le déclassement pour s'assurer que tous les résidus dangereux ont été éliminés.

2.2 Étiquettes

Introduction

Cette section décrit les étiquettes relatives à la sécurité et aux substances dangereuses apposées sur le Amersham WB analyzer. Pour plus d'informations sur le marquage de l'équipement informatique, se référer aux instructions du fabricant.

Emplacement des étiquettes sur le Amersham WB analyzer

L'illustration ci-dessous montre l'emplacement des étiquettes sur l'unité Elpho & scan et l'unité Western.

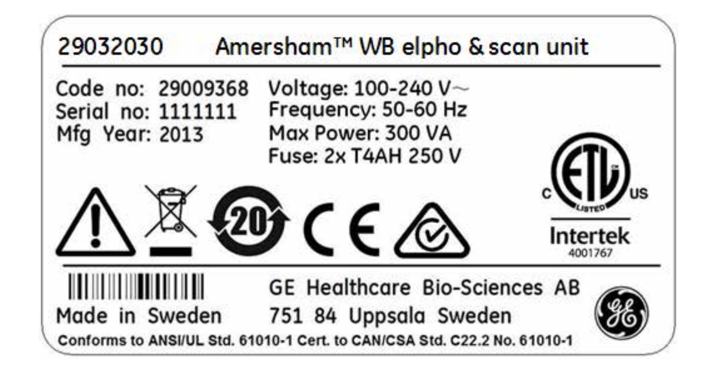




Pièce	Description
1	**Computer**
2	**Western unit**
3	Étiquette du produit Amersham WB elpho & scan unit
4	Étiquette de sécurité concernant la lumière laser
5	Étiquette du produit Amersham WB western unit
6	**Elpho & scan unit**
7	**Only for service**

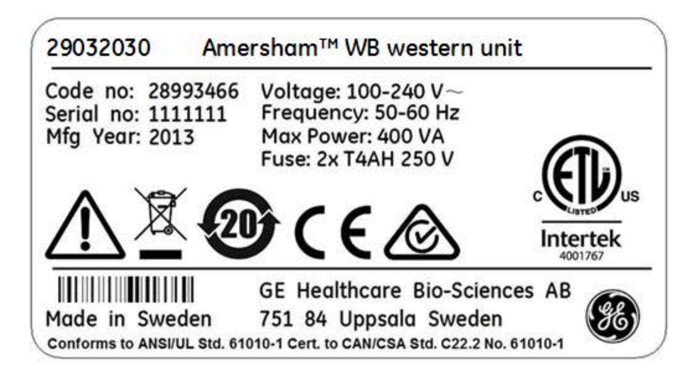
Elpho & scan étiquette de l'unité

L'illustration ci-dessous montre un exemple d'étiquette de produit apposée sur l'unité Elpho & scan. L'étiquette se trouve sur le panneau arrière de l'instrument.



Western étiquette de l’unité

L'illustration ci-dessous montre un exemple d'étiquette de produit apposée sur l'unité Western. L'étiquette se trouve sur le panneau arrière de l'instrument.



Symboles de sécurité utilisés sur les étiquettes de l'instrument

Les symboles de sécurité suivants sont utilisés sur les étiquettes :

Étiquette	Description
	Avertissement ! Lire le manuel d'utilisation avant d'utiliser le système. Ne pas ouvrir les capots et ne pas remplacer de pièces, à moins que cela ne soit spécifiquement indiqué dans le manuel d'utilisation.
	Le système est conforme aux directives européennes en vigueur. Se reporter à *Normes internationales, en page 11*.
	Le système est conforme aux exigences en vigueur en Australie et en Nouvelle-Zélande.
C US LISTED Intertek	Ce symbole indique que le Amersham WB system a été certifié par un Laboratoire d'essai reconnu au niveau national (NRTL). NRTL signifie que cet organisme est reconnu par l'US Occupational Safety and Health Administration (OSHA) comme répondant aux exigences légales du Titre 29 du Code of Federal Regulations (29 CFR) Part 1910.7.

Symboles concernant les substances dangereuses utilisés sur les étiquettes de l'instrument

Les symboles suivants présents sur les étiquette concernent les substances dangereuses :

Étiquette	Description
	Ce symbole indique que les équipements électriques et électroniques usagés ne doivent pas être éliminés comme des déchets ménagers non triés et doivent être collectés séparément. Contacter un représentant agréé du fabricant pour des informations sur le déclassement des équipements.
20	Ce symbole indique que le produit contient des substances dangereuses en taux supérieurs aux limites établies par la norme chinoise SJ/T11363-2006 Exigences pour les limites de concentration pour certaines substances dangereuses dans les composants électroniques.

Étiquette de sécurité concernant la lumière laser

Les étiquettes suivantes concernent la lumière laser. La première étiquette est apposée sur le panneau arrière de l'unité Elpho & scan. La seconde est apposée à l'intérieur du chargeurElpho & scan :

Étiquette	Description
CLASS 1 LASER PRODUCT Complies with 21 CFR 1040.10 and 1040.11 except for deviations pursuant to Laser Notice No. 50 dated July 24, 2007. IEC/EN 60825-1:2007 Jan ☐ Feb ☐ Mar ☐ Apr ☐ May ☐ Jun ☐ Jul ☐ Aug ☐ Sep ☐ Oct ☐ Nov ☐ Dec ☐	Cet appareil est un Produit laser de classe 1 (CEI 60825-1:2007/EN 60825-1:2007). Cet appareil réponds aux exigences en matière de sécurité des rayonnements laser spécifiées dans le Code of Federal Regulations (TITRE 21 CFR, chapitre 1, sous-chapitre J, Partie 1040-10 Produits laser). L'étiquette indique également le mois de fabrication.

Étiquette	Description
	Le symbole est visible lorsque le chargeur Elpho & scan est ouvert.

2.3 Procédures d'urgence

Introduction

Cette section décrit comment procéder à un arrêt d'urgence du Amersham WB analyzer et le résultat de celui-ci en cas de coupure de l'alimentation électrique.

Arrêt d'urgence




En cas d'urgence, débrancher les cordons d'alimentation secteur des **panneaux arrière** de l'unité Elpho & scan et de l'unité Western.

Cela permet de couper le courant immédiatement même si une alimentation électrique ininterrompue (UPS) est utilisée.

Coupure de courant

Le résultat d'une coupure de l'alimentation électrique est décrit ci-dessous :

Coupure de courant sur...	entraîne...
Amersham WB analyzer	• Toutes les analyses en cours seront interrompues. Les analyses ne seront pas poursuivies quand l'alimentation électrique reviendra à la normale. ***Remarque :*** *Une UPS peut éliminer la perte de données pendant et après une coupure de l'alimentation électrique ; il permet également de disposer d'un certain temps pour procéder à un arrêt contrôlé du Amersham WB analyzer.* • L'heure de l'arrêt sera journalisée dans le logiciel des unités de l'instrument.

Coupure de courant sur...	entraîne...
Ordinateur	• L'ordinateur connecté à l'unité Elpho & scan s'arrête. • Toutes les analyses en cours se poursuivent et se terminent car l'instrument dispose encore d'une alimentation électrique. • Quand l'ordinateur est redémarré et qu'un contact a été rétabli, les résultats des analyses sont sauvegardés. Le cas échéant, les images sont numérisées.

Redémarrage après arrêt d'urgence ou coupure de l'alimentation électrique de l'instrument

Quand l'alimentation électrique revient à la normale, aucune des analyses qui étaient en cours au moment de l'arrêt d'urgence n'est poursuivie. Procéder comme suit :

Étape	Action
1	Si les cordons d'alimentation secteur ont été débranchés, les rebrancher sur les panneaux arrière des unités de l'instrument. S'assurer que les interrupteurs secteur qui se trouvent sur les les panneaux arrière des unités de l'instrument sont On (**I**). *Résultat :* Les unités de l'instrument démarrent
2	Démarrer l'ordinateur et le logiciel (Voir *Démarrer le logiciel, en page 122*). Quand les unités de l'instrument sont connectées, les événements du journal sont conservés dans le journal des analyses.
3	Si vous souhaitez terminer une analyse qui a été interrompue, ouvrir le fichier de l'analyse. Ouvrir ensuite la boîte de dialogue ***Experiment Information*** et sélectionner l'onglet ***Experiment log***. Dans l'onglet ***Experiment log***, cocher l'étape à laquelle l'analyse a été interrompue. Supprimer les parties de l'étape qui étaient terminées quand l'analyse a été interrompue et redémarrer l'étape.

2.4 Informations sur le recyclage

Introduction

Cette section contient des informations sur le déclassement du Amersham WB analyzer.

Dépollution

Le Amersham WB analyzer doit être décontaminé avant son déclassement et toutes les réglementations locales doivent être respectées en ce qui concerne le recyclage des appareils.

Mise au rebut, instructions générales

Lorsque le Amersham WB analyzer est mis hors service, les différents matériaux doivent être séparés et recyclés conformément aux réglementations environnementales nationales et locales en vigueur.

Recyclage des substances dangereuses

Le Amersham WB analyzer contient des substances dangereuses. Des informations détaillées sont à votre disposition auprès de votre représentant GE.

Mise au rebut des composants électriques

Les déchets issus des équipements électriques et électroniques ne doivent pas être éliminés comme des déchets municipaux non triés et doivent être collectés séparément. Veuillez contacter un représentant autorisé du fabricant pour obtenir des informations à propos du déclassement de l'appareil.



3 Description du système

À propos de ce chapitre

Ce chapitre décrit les différentes parties du Amersham WB system. Le Amersham WB system est constitué de :

- Amersham WB analyzer (deux unités)
- des accessoires et consommables utilisés avec l'instrument
- d'un ordinateur (non inclus dans la livraison)
- Amersham WB software

Dans ce chapitre

Ce chapitre comporte les sections suivantes :

3.1 Présentation de l'instrument

Introduction

Cette section comporte une présentation du Amersham WB analyzer.

Le Amersham WB analyzer est constitué de deux unités :

- Amersham WB Unité elpho & scan
- Amersham WB Unité western

Les unités de l'instrument sont contrôlées par le PC à l'aide de Amersham WB software.

Remarque : *Les unités de l'instrument doivent toujours être connectées les unes aux autres pendant une analyse. Les deux unités doivent être sous tension quand une analyse est exécutée dans l'unité Western.*

Interrupteurs de sécurité

Présence de la haute tension et de deux lasers à l'intérieur de l'unité Elpho & scan. L'unité dispose d'interrupteurs de sécurité doubles qui coupent l'alimentation du convertisseur haute tension et des lasers quand le chargeur est ouvert.

Présence de la haute tension à l'intérieur du réservoir de transfert de l'unité Western. L'unité dispose d'interrupteurs de sécurité qui coupe l'alimentation quand le couvercle du réservoir de transfert est ouvert.

Illustration du Amersham WB analyzer

L'illustration ci-dessous montre le Amersham WB analyzer, avec l'unité Elpho & scan sur la gauche et l'unité Western sur la droite.



Illustration des panneaux de l'instrument

La même configuration des voyants lumineux est disponible sur les unités de l'instrument (électrophorèse et balayage, transfert, sondage et séchage). Quand les unités de l'instrument sont sous tension, les voyants indiquant les noms des compartiments sont allumés. Les voyants se trouvent sur le panneau de l'instrument de chaque unité.

L'illustration ci-dessous montre les panneaux de l'instrument de deux unités, avec les noms des compartiments allumés.



Voyants sur l'instrument

Le tableau ci-dessous décrit les différents voyants. Les voyants (Prêt/Analyse terminée, Analyse et Erreur ou Avertissement) sont identiques pour les compartiments des unités de l'instrument. Les voyants sont décrits **TRANSFER** dans cet exemple.

Voyants d'état	État	Description
TRANSFER	Démarrage	Le texte est allumé quand l'unité démarre et procède à ses tests internes.
TRANSFER	Prêt/Analyse terminée	Le voyant est allumé quand : • le compartiment/l'unité est prêt(e) pour une nouvelle analyse • une étape (par ex., électrophorèse, balayage, transfert, sondage ou séchage) est terminée
TRANSFER	Run	Le voyant est allumé : • quand le compartiment/l'unité fonctionne • pendant le nettoyage des circuits de transfert ou de sondage ***Remarque :*** *Ne pas ouvrir le(s) couvercle(s) concerné(s) pendant l'analyse. Par exemple, l'ouverture du couvercle de transfert pendant le transfert va arrêter l'exécution du transfert et peut affecter le résultat.*
TRANSFER	Erreur ou avertissement	Le voyant est allumé quand une erreur s'est produite Se référer à Amersham WB software pour plus d'informations à propos de l'erreur. Des suggestions sur la façon de corriger le problème sont fournies par le logiciel.

3.2 Unité Elpho & scan

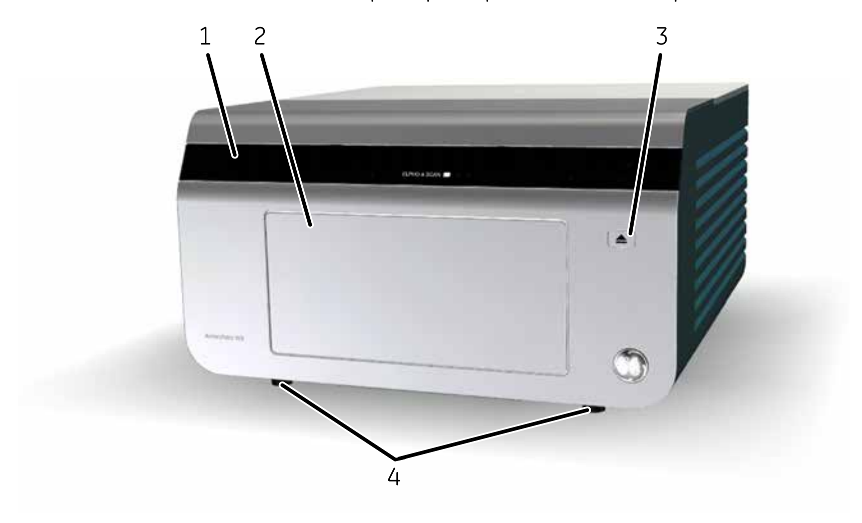
Introduction

L'unité Elpho & scan est utilisée pour séparer le protéines de l'échantillon traité par SDS dans un gel de polyacrylamide. Elle est aussi utilisée pour balayer les gels après électrophorèse ainsi que les plaques PVDF après sondage et séchage dans les analyses de type Western.

Cette section comporte une présentation de l'unité Elpho & scan.

Illustration de l'unité Elpho & scan

L'illustration ci-dessous montre les principales parties de l'unité Elpho & scan :

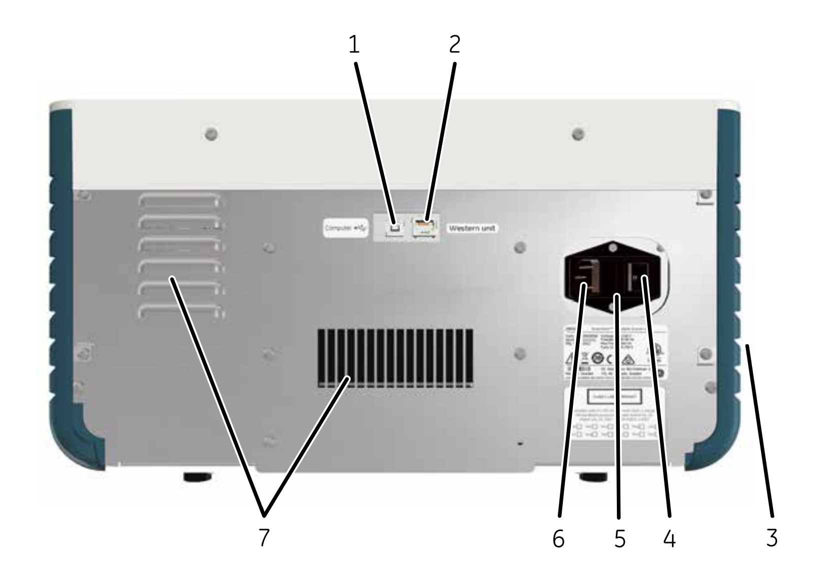


Pièce	Description
1	Panneau de l'instrument (avec voyants d'état)
2	Chargeur Elpho & scan Pour le chargement des plaques de gel ou des plaques PVDF.

Pièce	Description
3	Bouton d'éjection Pour ouvrir/fermer le chargeur du compartiment d'électrophorèse et de balayage. ***Remarque :*** *Le chargeur ne peut être ouvert qu'en l'absence d'une analyse d'électrophorèse ou de balayage. Toute analyse en cours doit tout d'abord être arrêtée à l'aide de l'instruction logicielle appropriée afin de pouvoir éjecter le chargeur.*
4	Pied réglable (4 pieds, un à chaque coin)

Illustration du panneau arrière de l'unité Elpho & scan

L'illustration ci-dessous montre les principales parties du panneau arrière de l'unité Elpho & scan :



Pièce	Description
1	Connecteur du câble USB (USB de type B) Pour connecter l'unité Elpho & scan à un ordinateur.
2	Connexion de communication pour l'unité Western (utilise un câble Ethernet)
3	Entrée d'air
4	Interrupteur de secteur ON=**I**, OFF=**O**
5	Tiroir des fusibles (5x20 mm)
6	Connecteur du cordon d'alimentation (60320/C14)
7	Sorties d'air

Chargeur Elpho & scan

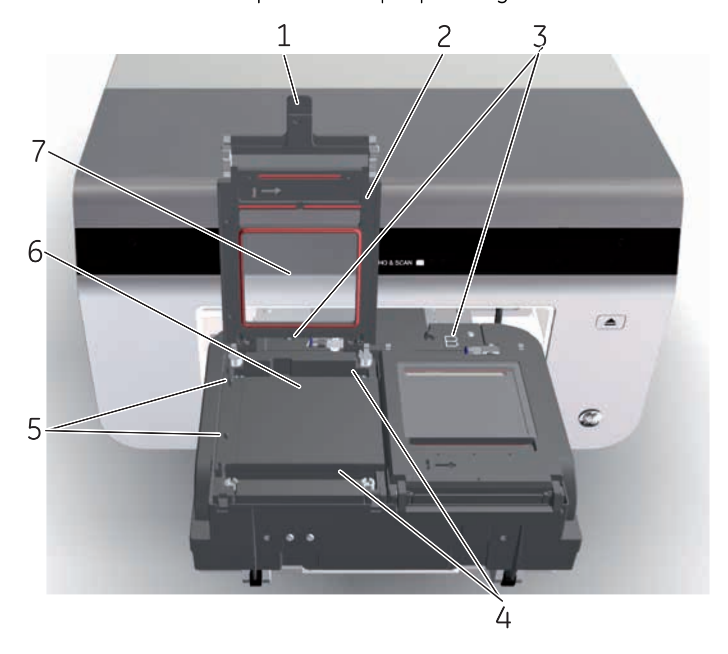
Chargeur Le chargeur Elpho & scan est utilisé pour charger :

- les plaques de gel pour électrophorèse et balayage
- les plaques PVDF pour balayage. Lors du chargement de plaques PVDF pour balayage, un Amersham WB membrane adapter doit tout d'abord être placé sur le plateau des plaques (voir *Section 5.9 Balayer la membrane et voir les résultats, en page 184* pour plus d'informations).

Le chargeur est éjecté de l'unité Elpho & scan en appuyant sur le bouton d'éjection sur le panneau avant.

Illustration du Elpho & scanchargeur

L'illustration ci-dessous montre l'unité Elpho & scan avec le chargeur éjecté et les couvercles d'étanchéité du plateau des plaques de gauche ouverts.



Pièce	Description
1	Verrou Pour ouvrir le couvercle d'étanchéité.
2	Couvercle d'étanchéité
3	Voyant de position **A** et de position **B**
4	Cavités Pour les supports de bandelettes de tampon avec connecteurs électriques pour les électrodes du tampon.
5	Goupilles de guidage Pour le placement correct des plaques de gel ou des adaptateurs de membrane dont les plaques PVDF.
6	Plateau des plaques Pour refroidir les plaques de gel et les maintenir à plat pendant le balayage.
7	Vitre de protection

3.3 Unité Western

Introduction

Unité est utilisée pour :Western

- transférer les protéines séparées dans le gel vers la membrane
- sonder les protéines sur la membrane avec les anticorps primaires puis les anticorps secondaires conjugués à un CyDye™
- sécher les plaques PVDF (avant balayage dans l'unité Elpho & scan)

Cette section comporte une présentation de l'unité Western.

Dans cette section

Cette section comporte les sous-sections suivantes :

3.3.1 Vue d'ensemble

Introduction

Cette section comporte une présentation des panneaux avant et arrière de l'unité Western.

Illustration de l'unité Western

L'illustration ci-dessous montre les principales parties de l'unité Western :

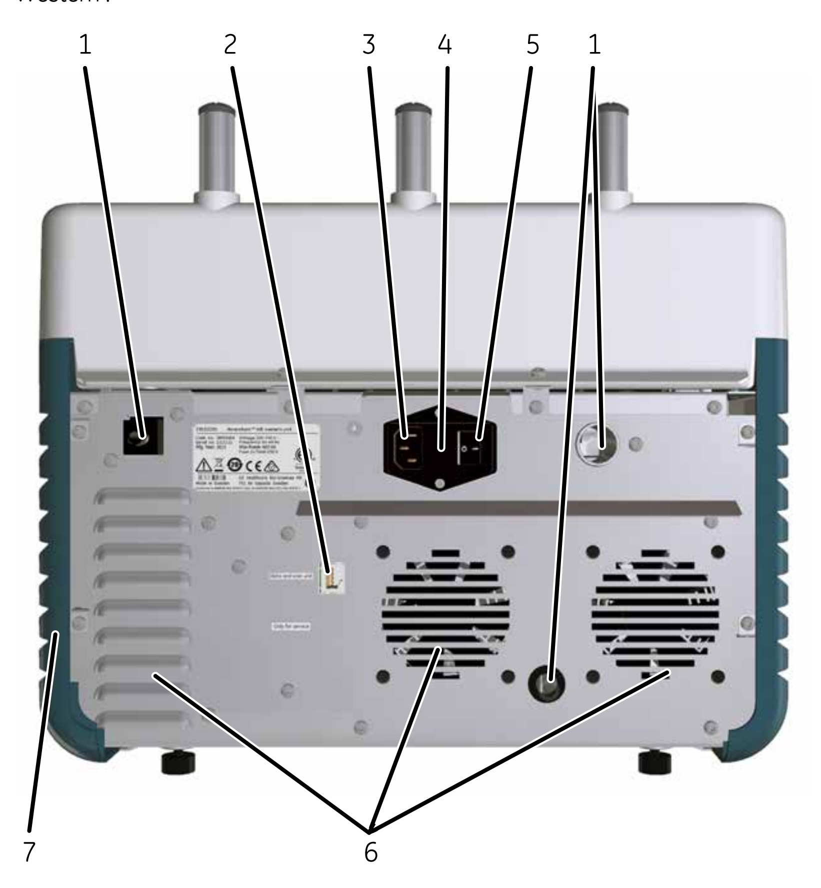


Pièce	Description
1	Couvercle du compartiment des anticorps
2	Appuyer sur cette zone pour ouvrir le couvercle du compartiment des anticorps
3	Panneau de l'instrument (pour les voyants d'état)
4	Couvercle du réservoir de transfert

Pièce	Description
5	Porte-flacons (et couvercle du compartiment d'entretien) ***Remarque :*** *Ne retirer le porte-flacons qu'une fois que les pompes et les tubulures ont été inspectées ou quand des pièces ont été remplacées comme décrit dans Chapitre 6 Maintenance, en page 190.*
6	Porte-tubes
7	Couvercle du compartiment de sondage
8	Couvercle du compartiment de séchage

Illustration du panneau arrière de l'unité Western

L'illustration ci-dessous montre les principales parties du panneau arrière de l'unité Western :



Pièce	Description
1	Sorties des déchets et de la tubulure du trop-plein
2	Connexion de communication pour le Elpho & scan (utilise un câble Ethernet)
3	Connecteur du cordon d'alimentation (60320/C14)
4	Tiroir des fusibles (5x20 mm)
5	Interrupteur d'alimentation secteur (ON=**I**, OFF=**O**)
6	Sorties d'air

Pièce	Description
7	Entrée d'air

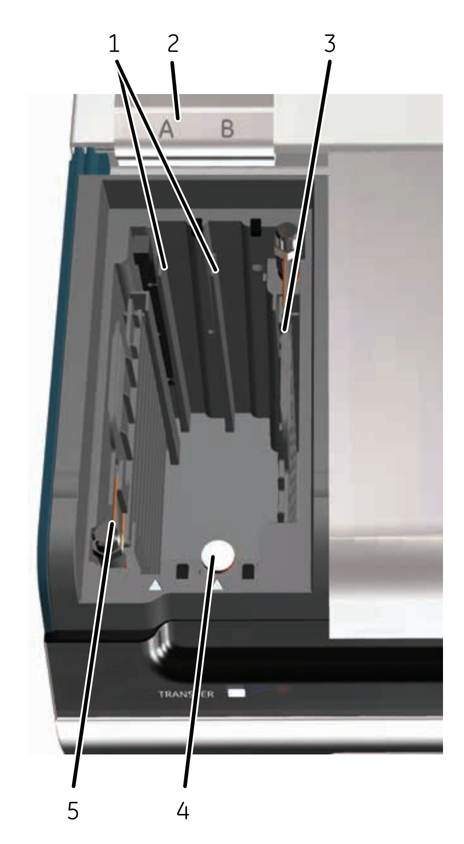
3.3.2 Compartiments de l'unité Western

Introduction

Cette section décrits les différents compartiments de l'unité Western avec les couvercles ouverts.

Illustration du réservoir de transfert

Unité L'illustration ci-dessous montre le réservoir de transfert de l'unité Western.

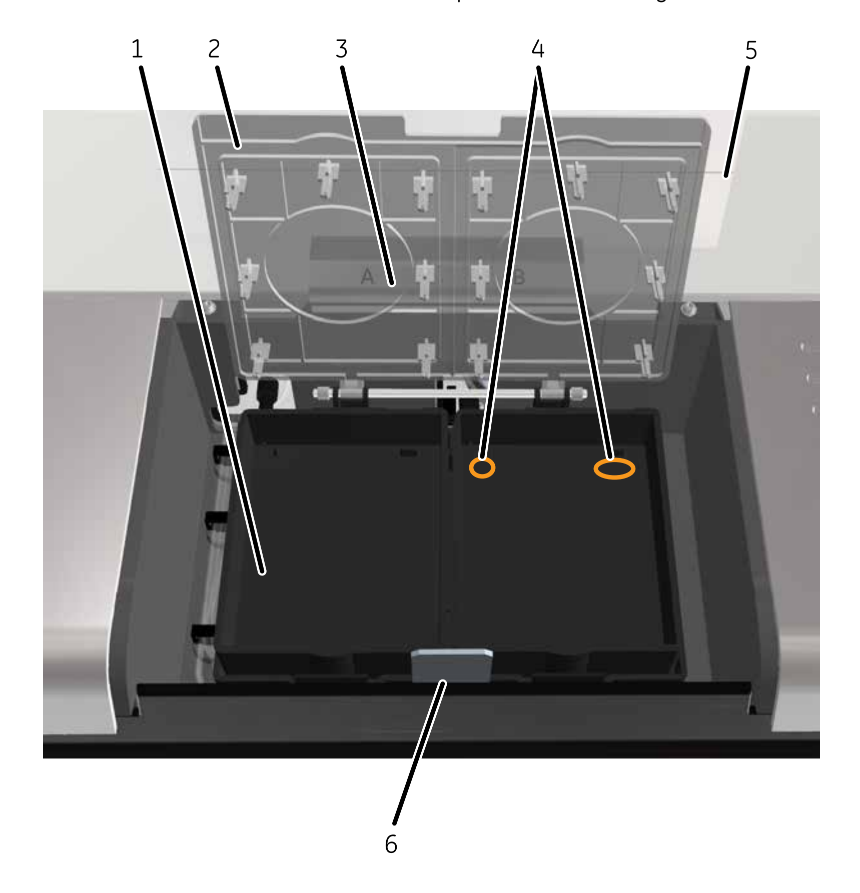


Pièce	Description
1	Chemins de guidage du sandwich
2	Voyant de position **A** et de position **B**

Pièce	Description
3	Électrode de transfert droite
4	Filtre du réservoir de transfert
5	Électrode de transfert gauche

Illustration du compartiment de sondage

Unité L'illustration ci-dessous montre le compartiment de sondage de l'unité Western.

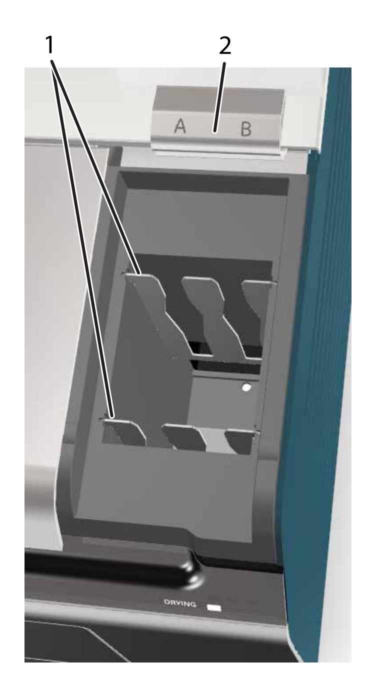


Pièce	Description
1	Chambre de sondage

Pièce	Description
2	Couvercle de la chambre de sondage
3	Voyant de position **A** et de position **B**
4	Goupilles de guidage pour la plaque PVDF (repérées par des cercles orange)
5	Couvercle du compartiment de sondage
6	Trappe du couvercle de la chambre de sondage

Illustration du compartiment de séchage

Unité L'illustration ci-dessous montre le compartiment de séchage de l'unité Western.

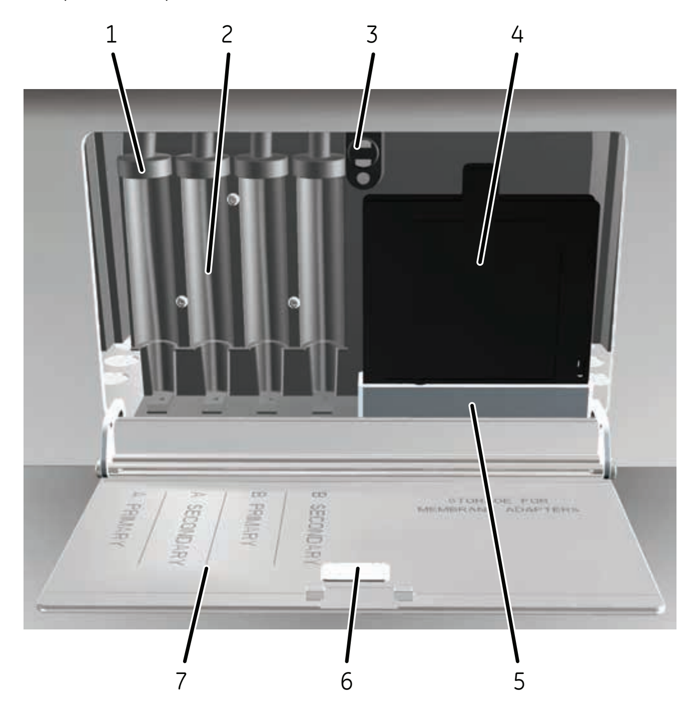


Pièce	Description
1	Guides du dispositif de séchage de la membrane
2	Indicateur de position **A** et emplacements **B** de position

Illustration du compartiment des anticorps

Unité L'illustration ci-dessous montre le compartiment des anticorps dans lequel des tubes de 15 ml de solutions d'anticorps primaires et secondaires sont insérés avant le sondage (côté gauche). Voir *Connecter les tubes de la solution d'anticorps, en page 170* pour plus d'informations.

Le côté droit du compartiment est utilisé pour le stockage des Amersham WB membrane adapters (adaptateurs de membrane).

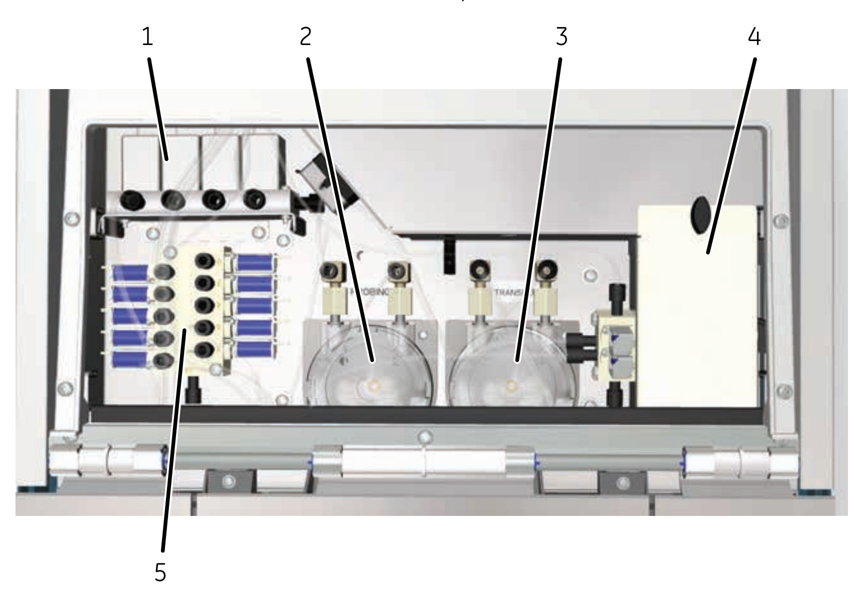


Pièce	Description
1	Porte-tubes
2	Tubulure
3	Verrou de la porte (magnétique)
4	Adaptateurs de membrane
5	Support pour les adaptateurs de membrane
6	Verrou de la porte

Pièce	Description
7	Voyant de position du tube de solution des anticorps **A PRIMARY**, **A SECONDARY**, **B PRIMARY** et **B SECONDARY**.

Illustration du compartiment d'entretien

Unité L'illustration ci-dessous montre le compartiment d'entretien de l'unité Western.



Pièce	Description
1	Bloc de la vanne de transfert
2	Pompe de sondage
3	Pompe de transfert
4	Couvercle du compartiment du filtre à air
5	Bloc de la vanne de sondage

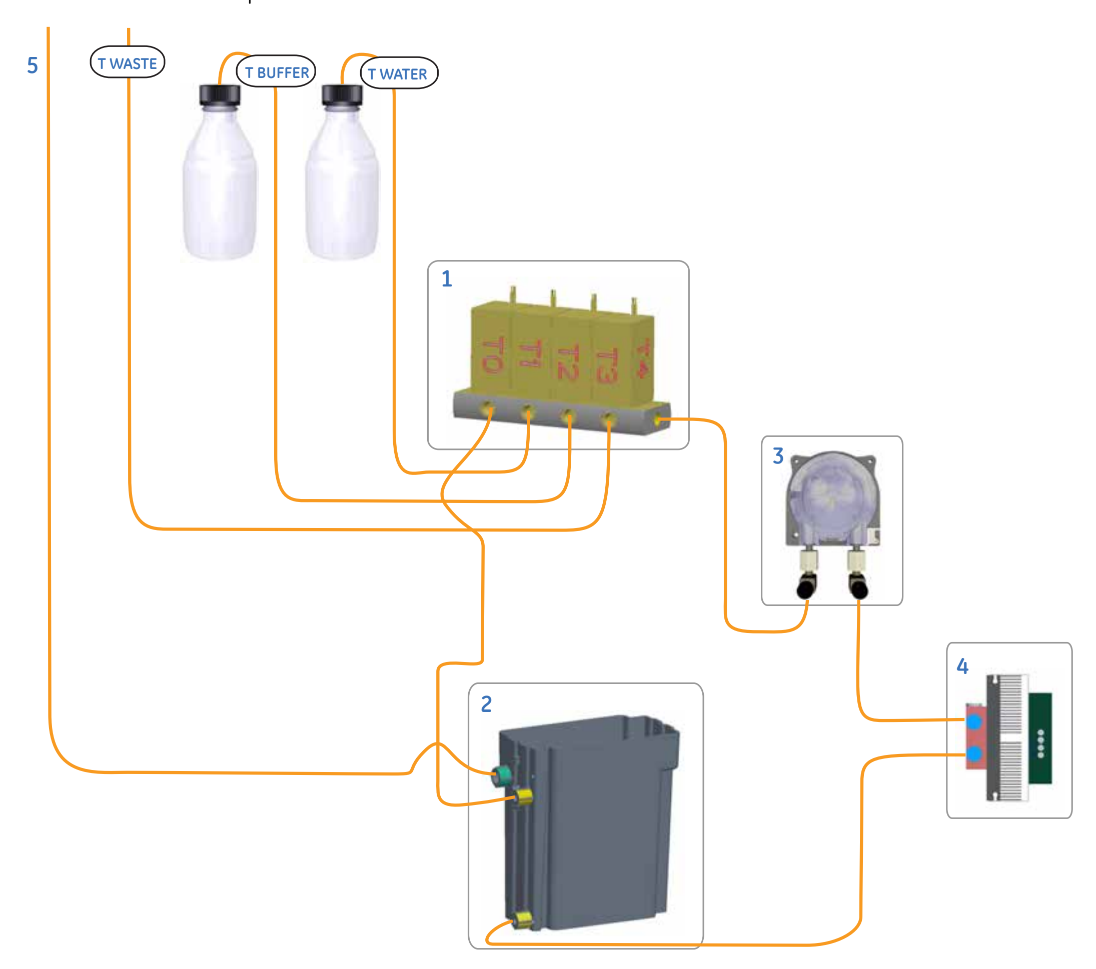
3.3.3 Circuits des liquides

Introduction

Cette section montre les circuits des liquides de transfert et de sondage dans l'unité Western et en décrit les principes de fonctionnement de base.

Illustration du circuit du liquide de transfert

L'illustration ci-dessous montre un schéma détaillé du processus de transfert. Le schéma montre les interconnexions entre les composants de l'instrument. Les étiquettes blanches font référence aux étiquettes de la tubulure. Les nombres bleus font référence aux composants de l'instrument.



Le tableau ci-dessous décrit les composants qui apparaissent dans le schéma :

Pièce	Description
1	Bloc de la vanne de transfert Pour sélectionner la solution qui doit être pompée dans le circuit du liquide.
2	Réservoir de transfert

Pièce	Description
3	Pompe de transfert Pour pomper la solution par le circuit du liquide.
4	Unité de refroidissement du transfert Pour refroidir le tampon de transfert et le garder à température ambiante.
5	Débordement du réservoir de transfert

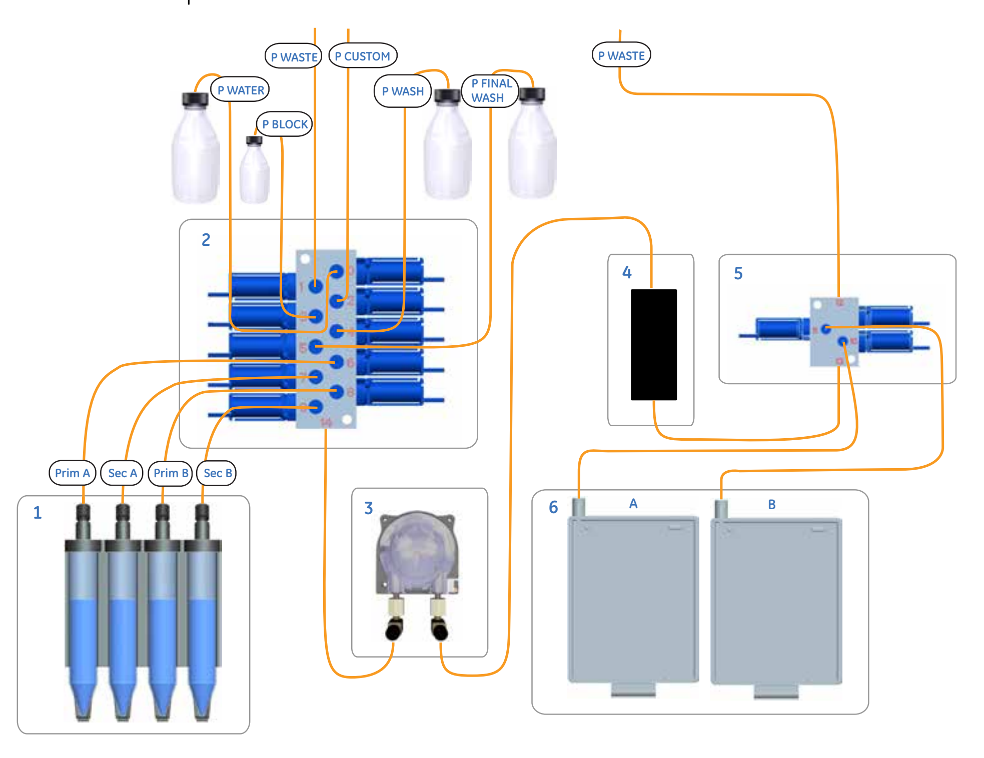
Principe du base du processus de transfert

Pendant le transfert, un transfert électrophorétique des protéines séparées dans le gel vers la membrane est réalisé. Le principe de base du processus de transfert est décrit ci-dessous.

Stade	Description
1	Quand le Amersham WB transfer holder(s) (support de transfert) a été chargé dans le réservoir de transfert, ce dernier est rempli par le tampon de transfert (le tube marqué **T Buffer**).
2	Pendant l'étape de transfert, le tampon de transfert est pompé dans le réservoir de transfert, l'unité de refroidissement du transfert, la pompe de transfert et le bloc de la vanne de transfert, circulant ainsi pendant l'analyse. L'unité de refroidissement du transfert garantit que le tampon de transfert est maintenu à température ambiante pendant l'analyse.
3	Après une analyse et après le retrait des supports de transfert, de l'eau ultra pure est utilisée pour nettoyer le circuit du liquide (le tube marqué **T Water** est utilisé pour le nettoyage).

Illustration du circuit du liquide de sondage

L'illustration ci-dessous montre un schéma détaillé du processus de sondage. Le schéma montre les interconnexions entre les composants de l'instrument. Les étiquettes blanches font référence aux étiquettes de la tubulure. Les nombres bleus font référence aux composants de l'instrument.



Le tableau ci-dessous décrit les composants qui apparaissent dans le schéma :

Pièce	Description
1	Compartiment des anticorps avec des tubes de solutions d'anticorps primaires et secondaires pour les positions **A** et **B**.
2	Bloc de la vanne de sondage Utilisé pour sélectionner la solution à pomper dans le circuit.
3	Pompe de sondage Pour pomper la solution par le circuit du liquide.

Pièce	Description
4	Capteur d'air Pour détecter la présence d'air dans la tubulure. Le détecteur d'air met l'analyse en pause si un flacon de solution est vide.
5	Vanne du sélecteur de la chambre de sondage Pour sélectionner la direction de la solution vers les chambres de sondage ou depuis les chambres de sondage vers la sortie des déchets.
6	Chambres de sondage

Principe de base du processus de sondage

Au cours du sondage, les anticorps primaires sont liés aux protéines sur la membrane puis les anticorps secondaires conjugués à un CyDye sont liés aux anticorps primaires.

Le principe de base du processus de sondage est décrit ci-dessous.

Stade	Description
1	La chambre de sondage est préremplie avec la première solution, comme indiqué dans le protocole de sondage du logiciel (la solution de blocage est utilisée par défaut). Le préremplissage de la chambre de sondage est lancé par l'utilisateur en sélectionnant l'instruction logicielle appropriée.
2	Les plaques PVDF sont insérées dans les chambres de sondage et des incubations séquentielles (comportant des étapes de lavage) de la membrane avec la solution de blocage, des anticorps primaires et des anticorps secondaires sont réalisées.

3.4 Présentation des accessoires et des consommables

Introduction

Cette section donne une présentation des accessoires et des consommables utilisés avec le Amersham WB analyzer. Elle comporte aussi des informations sur la conservation des consommables et sur la façon de les commander.

Accessoires et consommables

Le tableau ci-dessous répertorie les accessoires et les consommables utilisés avec l'instrument en relation avec la tâche opérationnelle à réaliser. Les accessoires de l'instrument sont livrés avec le système, les consommables doivent être commandés séparément.

Les accessoires à installer sont décrits dans *Section 4.2 Installation du matériel, en page 95* et les accessoires destinés aux tâches de maintenance par l'utilisateur sont décrits dans *Accessoires de maintenance, en page 203*.

Pour une description détaillée des accessoires et des consommables, voir les sections suivantes.

Tâche	Consommables nécessaires	Accessoires nécessaires	Pour plus de détails, voir...
Prémarquage des échantillons	• Amersham WB Cy5 • Amersham WB labeling buffer (tampon de marquage) • Amersham WB loading buffer (tampon de marquage) • Amersham WB MiniTrap™ kit (en option)	S/O	Section 3.5
Analyse par électrophorèse	• Amersham WB molecular weight markers (marqueurs de masse moléculaire) • Amersham WB gel card (plaque de gel) • Amersham WB buffer strip (bandelette de tampon) • Amersham WB loading buffer • Amersham WB paper comb (en option) (peigne en papier)	Amersham WB buffer strip holder [1] (support des bandelettes de tampon)	Section 3.6

Tâche	Consommables nécessaires	Accessoires nécessaires	Pour plus de détails, voir...
Western étapes du transfert			
Transfert	• Amersham WB gel card provenant de l'analyse par électrophorèse • Amersham WB PVDF card (plaque PVDF) • Amersham WB transfer paper (papier de transfert) • Amersham WB sponge (éponge) • Solutions de transfert préparées au laboratoire (pour les formules, voir *Formules des solutions de transfert, en page 145*)	Amersham WB transfer holder[1] (support de transfert)	Section 3.7.1
Sondage	• Solutions d'anticorps primaire préparées au laboratoire • Anticorps secondaire : Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 (Cy3/Cy5 de chèvre anti-souris) ou Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5 (Cy3/Cy5 de chèvre anti-lapin) • Plaque PVDF provenant de l'étape de transfert • Solutions de sondage préparées au laboratoire (pour les formules, voir *Formules pour solutions de sondage et solutions d'anticorps, en page 169*)	Tubes de solution d'anticorps[1]	Section 3.7.2
Séchage	Plaque PVDF provenant de l'étape de sondage	Amersham WB drying holder (Support de séchage)	S/O
Balayage de la plaque PVDF dans l'unité Elpho & scan	Plaque PVDF provenant de l'étape de séchage	Amersham WB membrane adapter[1] (adaptateur de membrane)	Section 3.7.4
Autres			

Tâche	Consommables nécessaires	Accessoires nécessaires	Pour plus de détails, voir...
Balayage des balises matricielles de données sur les plaques de gel et les plaques uniques PVDF (en option)	S/O	Lecteur de balises matricielles (à commander séparément)	Section 3.8

1 Inclus lors de la livraison du Amersham WB analyzer.

Commander des consommables

Selon l'analyse à réaliser, différentes combinaisons de consommables sont nécessaires. Un guide de sélection permettant de réunir un kit de consommables est disponible à www.gelifesciences.com.

Pour des informations relatives à la commande de consommables séparés, voir *Amersham WB system User Manual*.

Conservation des consommables

Le tableau ci-dessous récapitule les conditions de conservation et les conditions environnementales des divers consommables. La date de péremption des consommables est imprimée sur le conditionnement.

Consommable	Température de stockage	Environnement
Consommable prémarquage	-15°C à -30°C	Maintenir les contenus à l'abri de la lumière directe du soleil. Éviter la répétition des cycles congélation-décongélation du réactif coloré Cy5. Le réactif coloré Cy5 dilué doit être utilisé dans les 30 min et ne doit pas être congelé.

Consommable	Température de stockage	Environnement
Amersham WB molecular weight markers	-15°C à -30°C	Maintenir les marqueurs de masse moléculaire (MW) à l'abri de la lumière directe du soleil. Les marqueurs MW doivent toujours être conservés au congélateur. Réduire la durée de temps à température ambiante avant l'utilisation et éviter la ré-congélation. Les marqueurs MW dilués dans le tampon de chargement avec DTT peuvent être répartis en aliquotes pour être utilisés en une seule fois, s'ils sont congelés directement après la dilution. Les aliquotes ne doivent pas être conservées plus d'une semaine.
Amersham WB gel card	4°C à 8°C	Conserver au réfrigérateur ou dans une pièce froide.
Amersham WB buffer strips	4°C à 8°C	Conserver au réfrigérateur ou dans une pièce froide.
Amersham WB PVDF card	Température ambiante	Conserver la plaque PVDF dans son emballage unique, à l'intérieur de la boite de livraison. Conserver la boite dans un endroit propre et sec, à l'abri de la lumière.
Amersham WB transfer paper	Température ambiante	Conserver les papiers de transfert dans un lieu sec, dans la boîte dans laquelle ils ont été livrés. Tenir à l'abri de la poussière.
Amersham WB paper comb	Température ambiante	Conserver les peignes en papier dans un lieu sec, dans la boîte dans laquelle ils ont été livrés. Tenir à l'abri de la poussière.

Consommable	Température de stockage	Environnement
Amersham WB sponge	Température ambiante	Tenir à l'abri de la poussière et de la lumière directe du soleil.
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 ou Amersham WB anti-rabbit Cy3/Cy5, lyophi-lisé	2°C à 8°C	Tenir les anticorps secondaires à l'abri de la lumière.
Anticorps secondaires recons-titués (reconstitués dans de l'eau ultra à une concentration de 1 µg/µl)	Conserver les aliquotes entre -15°C et -30°C	Tenir les anticorps secondaires reconstitués à l'abri de la lu-mière. Les aliquotes ne doivent pas être conservées plus de 6 mois. Éviter la répétition des cycles congélation-décongélation.
Anticorps primaires	Voir les instructions du fabri-cant.	Voir les instructions du fabri-cant.

3.5 Consommable prémarquage

Introduction

Les consommables de prémarquage sont utilisés pour le prémarquage des échantillons protéiques avec un colorant fluorescent.

Prémarquage fluorescent des échantillons :

- permet la détection des protéines totales lors du balayage de la plaque de gel,
- élimine le besoin de procéder à une post-coloration du gel.

Quand utiliser le prémarquage des protéines

Le prémarquage des protéines est toujours réalisé avant l'étape d'électrophorèse lors de la réalisation :

- d'analyses par électrophorèse,
- d'analyses de type Western avec normalisation des protéines totales.

Consommable prémarquage

Les consommables de prémarquage sont emballés indépendamment dans des sachets. Chaque sachet de consommable contient des réactifs en solution en quantité suffisante pour analyser 10 plaques de gel (où 14 pistes/plaque de gel sont chargées avec des échantillons prémarqués), c'est-à-dire, 140 réactions individuelles de marquage.

Le tableau ci-dessous répertorie les contenus des consommables de prémarquage.

Consommable de prémarquage	Contenu	Quantité
Amersham WB Cy5	0,25 mg/ml (environ 250 pmol/µl) de Cy5 dans du DMSO	5 flacons (bouchons bleus) 35 µl de solution colorée Cy5 par fiole (suffisante pour deux plaques de gel)
Amersham WB labeling buffer (tampon de marquage)	Tampon à base de Tris contenant du SDS à pH 8,7 (à 25 °C)	5 flacons (bouchons noirs) 0,7 ml de solution tampon de marquage par fiole (suffisante pour deux plaques de gel)

Consommable de prémarquage	Contenu	Quantité
Amersham WB loading buffer (tampon de marquage)	Tris-Cl 50 mM, Orange G 0,25 % (p/v), SDS 4 %, Lysine 0,5 mM	5 flacons (bouchons orange) 0,7 ml de solution de tampon par fiole (suffisante pour deux plaques de gel)

Consommable pour préparation d'échantillon

Le tableau ci-dessous décrit le Amersham WB MiniTrap kit.

Consommable pour préparation d'échantillon	Fonction	Quantité
Amersham WB MiniTrap kit	Ce kit est prévu pour le nettoyage pratique et rapide des échantillons de protéines (>5 000 M_r), contenant des substances d'interférence, par ex. l'imidazole.	• 30 colonnes jetables pré-garnies PD MiniTrap G-25, contenant du milieu Sephadex™ G-25 • 1 flacon de 10× Amersham WB labeling buffer (14 ml de solution mère) • Support de colonne intégré, plateau de collection de déchets et porte-tube

3.6 Accessoires et consommables pour l'électrophorèse

Introduction

Les accessoires et consommables suivants sont indispensables à l'électrophorèse des protéines :

- Amersham WB buffer strip
- Amersham WB buffer strip holder
- Amersham WB molecular weight markers
- Amersham WB gel card
- Amersham WB paper comb, si le puits de l'échantillon doit être nettoyé
- Amersham WB loading buffer (voir *Section 3.5 Consommable prémarquage, en page 64* pour des informations à propos du tampon de chargement)

Dans cette section

Cette section comporte les sous-sections suivantes :

3.6.1 Amersham WB molecular weight markers

Introduction

Amersham WB Les molecular weight markers sont des mélanges de neuf protéines natives et recombinantes, M_r : de 10 000 à 225 000, marquées avec Cy3 et Cy5, pour la détermination de la masse moléculaire des protéines sur les plaques de gel et de PVDF balayées.

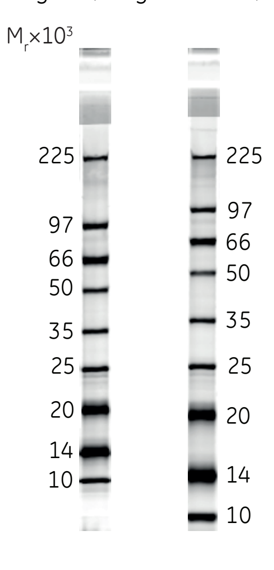
Le logiciel calcule les courbes d'étalonnage des masses moléculaires. Quand deux courbes d'étalonnage des masses moléculaires sont utilisées, les données interpolées à partir des courbes sont utilisées pour créer des courbes d'étalonnage spécifiques de la piste de l'échantillon. Les masses moléculaires de toutes les bandes détectées dans chaque piste sont alors calculées.

Contenu

Chaque conditionnement de Amersham WB molecular weight markers contient une quantité suffisante de solution pour analyser 10 plaques de gel (où 2 pistes/plaques de gel sont chargées avec Amersham WB molecular weight markers).

Illustration des marqueurs MW

L'illustration ci-dessous montre les tailles des Amersham WB molecular weight markers séparées sur une plaque de gel en gradient (image de gauche) et une plaque de gel homogène (image de droite) :



Protéines des marqueurs MW

Le tableau ci-dessous montre les protéines incluses :

Protéine	Masse moléculaire ($M_r \times 10^3$)
Protéine recombinante	225
Phosphorylase b, muscle de lapin	97
Albumine, sérum bovin	66
Protéine recombinante	50
Protéine recombinante	35
Protéine recombinante	25
Inhibiteur de la trypsine, soja	20
Alpha-lactalbumine, lait bovin	14
Protéine recombinante	10

3.6.2 Amersham WB gel card

Introduction

Cette section décrit en détail les plaques de gel.

Types de plaques de gel

Il existe deux types de plaques de gel :

- Plaque de gel homogènes : Amersham WB gel card 14, 13.5%
- Plaque de gel en gradient : Amersham WB gel card 14, 8-18%

Composition du gel

Les gels sont prémoulés dans la casette pour plaque de gel. Les gels sont de type polyacrylamide/bisacrylamide et contiennent un tampon tris-acétate.

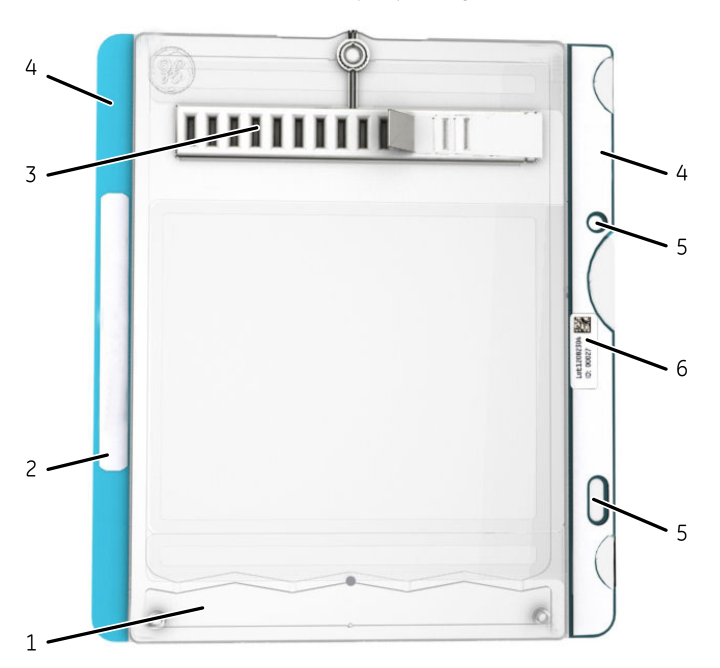
Résolution de la séparation des protéines

Le tableau ci-dessous répertorie les résolutions de la séparation des protéines selon les types de plaques de gel :

Type plaques de gel	Résolution de la séparation, $M_r \times 10^3$
Amersham WB gel card 14, 13.5% Homogène	10 à 225
Amersham WB gel card 14, 8-18% En gradient	• 6 à 225 (protéines prémarquées) • 3,5 à 225 (analyses de type Western, détection d'anticorps)

Illustration de la face avant d'une plaque de gal

L'illustration ci-dessous montre la plaque de gel avec la face avant orientée vers le haut :



Pièce	Description
1	Surface permettant l'écriture de vos propres annotations ***Remarque :*** *Toujours utiliser un crayon lors de l'écriture d'une annotation.* L'annotation peut être également saisie dans le logiciel.
2	Étiquette portant le type de la plaque de gel
3	Couvercle du puits de l'échantillon qui doit être retiré quand le couvercle d'étanchéité de l'unité Elpho & scan a été fermé, avant l'application des échantillons.
4	Poignées de la plaque de gel permettant de faciliter la manipulation du gel quand il a été retiré de son support pour un transfert de type Western.

Pièce	Description
5	Orifices de guidage pour le placement correct des plaques de gel dans le chargeur Elpho & scan et le support de transfert.
6	Étiquette portant la balise matricielle Données, le Numéro de lot et l'ID

Illustration de la face arrière d'un plaque de gel

L'illustration ci-dessous montre la plaque de gel avec la face arrière orientée vers le haut :



Pièce	Description
1	Films de protection qui sont retirés avant l'électrophorèse pour permettre le contact entre le gel et les bandelettes de tampon.
2	Film de protection qui est retiré lors de la préparation du sandwich de transfert (uniquement pertinent pour les analyses de type Western).

3.6.3 Amersham WB buffer strip et Amersham WB buffer strip holder

Introduction

Les supports de bandelette de tampon maintiennent en place les bandelettes de tampon pendant une analyse pas électrophorèse. Les supports de bandelette de tampon disposent d'électrodes intégrées, qui assurent le contact entre l'électrode et la bandelette de tampon, permettant le passage d'un courant électrique pendant l'analyse.

Les bandelettes de tampon sont chargées dans les supports avant le démarrage de l'analyse et sont jetées après celle-ci. La forme du support guide l'utilisateur quand il place les bandelettes de tampon dans les supports et quand il place les supports dans l'unité Elpho & scan.

Voir *Préparations avant le démarrage de l'électrophorèse, en page 132* pour plus d'informations.

Tampon utilisé dans les bandelettes de tampon

Le tampon utilisé dans les bandelettes de tampon est le tampon Tris-tricine.

Illustration des bandelettes de tampon

L'illustration ci-dessous montre une bandelette de tampon.

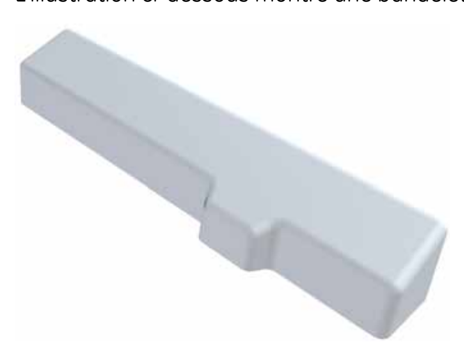
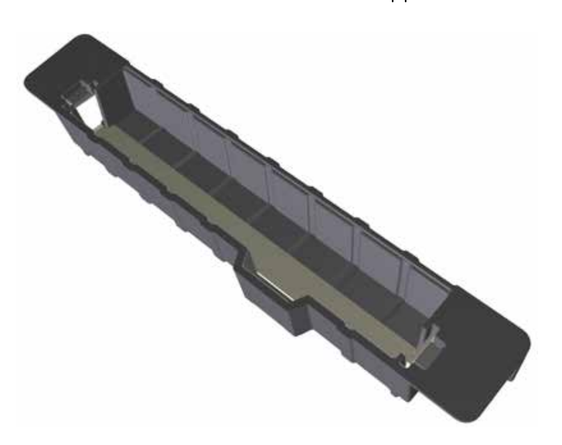


Illustration des supports des bandelettes de tampon

L'illustration ci-dessous montre un support de bandelette de tampon.



3.6.4 Amersham WB paper comb

Introduction

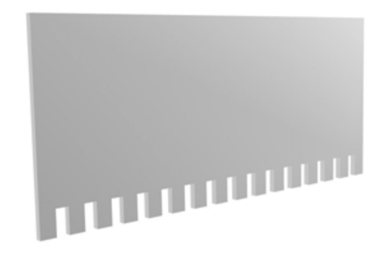
Le peigne en papier est utilisé pour nettoyer les puits d'échantillonnage quand les protéines ont migré dans le gel pendant quelques minutes. Le nettoyage du puits d'échantillonnage est recommandé pour enlever l'excédent de colorant en cas d'utilisation d'échantillons prémarqués. Cette opération permet de réduire le bruit de fond, améliorant ainsi la détection et la quantification des protéines peu abondantes (<1 ng/bande) et des protéines à faible poids moléculaire (M_r<40 000).

Le nettoyage du puits d'échantillonnage améliorera également la résolution de la bande, pour les échantillons non marqués à concentration importante de protéines ou des volumes importants d'échantillons.

Pour plus d'informations sur l'utilisation du peigne en papier, voir *Démarrer et surveiller une électrophorèse et le balayage du gel, en page 139*.

Illustration du peigne en papier

L'illustration ci-dessous montre un peigne en papier.



3.7 Accessoires et consommables pour les étapes du transfert de type Western

Introduction

Cette section décrit les accessoires et les consommables utilisés pour le transfert des protéines depuis le gel vers la membrane, le sondage de la membrane avec les anticorps primaires et secondaires et le balayage des plaques PVDF.

Dans cette section

Cette section comporte les sous-sections suivantes :

3.7.1 Accessoires et consommables pour le transfert

Introduction

Cette section décrit :

- Amersham WB transfer holder (accessoire)
- Amersham WB PVDF card (consommable)
- Amersham WB transfer paper (consommable)
- Amersham WB sponge (consommable)

Amersham WB transfer holder

Le support de transfert est utilisé pendant le transfert. Il contient le sandwich de transfert (éponge, papier de transfert, plaque de gel, plaque PVDF, papier de transfert et éponge) préparé avant le démarrage du transfert. Les protéines séparées sont transférées depuis le gel vers la membrane pendant le transfert.

Les goupilles de guidage du support de transfert garantissent que la plaque de gel et la plaque PVDF sont positionnées correctement lors de la préparation du sandwich de transfert.

Grâce à l'utilisation d'un rouleau intégré (lors du déplacement du rouleau sur le chemin de roulement au-dessus du sandwich), les bulles d'air sont éliminées et une pression reproductible est appliquée sur la plaque de gel et la plaque PVDF pour un processus de transfert régulier.

Voir *Commencer à construire le sandwich de transfert, en page 153* pour plus d'information sur la façon de préparer le sandwich de transfert.

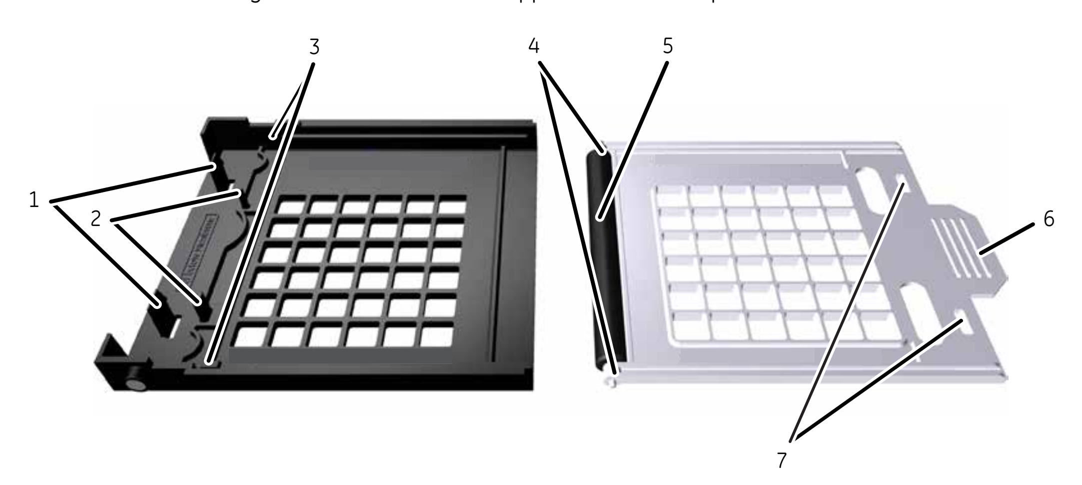
Illustration du support de transfert quand il est fermé

L'image ci-dessous montre le support de transfert quand il est fermé :



Illustration du support de transfert quand il est démonté

L'image ci-dessous montre le support de transfert quand il est démonté.



Le tableau ci-dessous décrit les différentes pièces du support de transfert.

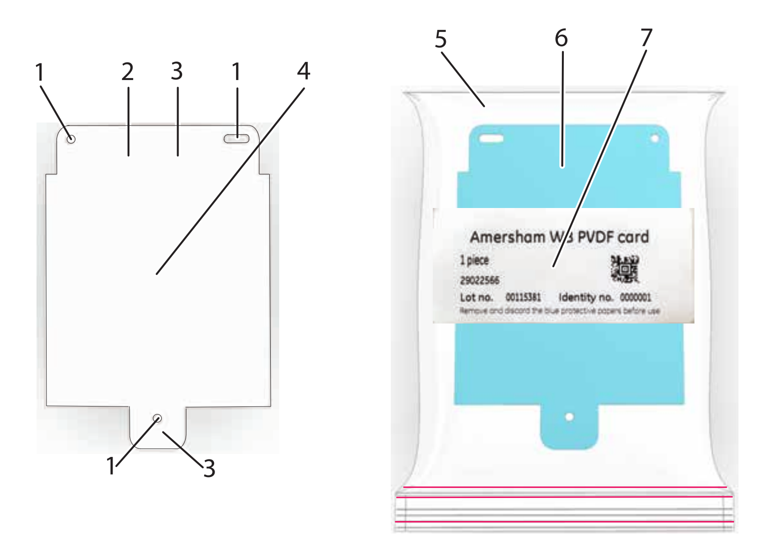
Pièce	Fonction
Partie basse (couvercle noir)	
1	Fermoirs

Pièce	Fonction
2	Goupilles de guidage pour la plaque de gel et la plaque PVDF
3	Chemins de roulement (pour les goupilles du rouleau)
Partie haute (couvercle blanc)	
4	Goupilles du rouleau (s'adaptent dans les chemins de roulement pour assembler les couvercles)
5	Rouleau
6	Poignée
7	Orifices pour les fermoirs

Amersham WB PVDF card

Au cours de l'étape de transfert, les protéines sont transférées depuis le gel vers la surface d'absorption qui fait partie de la plaque PVDF. La plaque PVDF est une membrane PVDF faiblement fluorescente.

L'illustration ci-dessous présente les différentes parties de la plaque PVDF et l'emballage unique de la plaque PDVF.



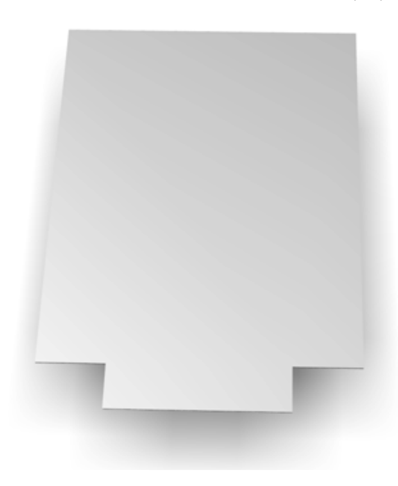
Le tableau suivant décrit les différentes parties de la plaque PVDF et l'emballage unique de la plaque PDVF.

Pièce	Description
1	Orifices de guidage ***Remarque :*** *Les orifices de guidage aident au placement correct de la plaque dans le support de transfert, la chambre de sondage et le chargeur Elpho & scan.*
2	Surface permettant l'écriture de vos propres annotations ***Remarque :*** *Toujours utiliser un crayon lors de l'écriture d'une annotation.* L'annotation peut être également saisie dans le logiciel.
3	Poignées de la plaque
4	Surface d'absorption
5	PDVF emballage unique de la plaque
6	PDVF plaque avec papiers de protection
7	Étiquette contenant le code produit, le numéro de lot, le numéro d'identification et la balise matricielle de données (intégrant le code produit, le numéro de lot et le numéro d'identification)

Amersham WB transfer paper

Les papiers de transfert sont utilisés lors de la préparation du sandwich de transfert.

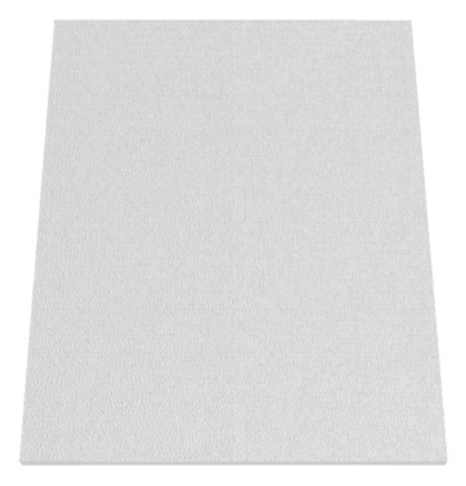
L'illustration ci-dessous montre un papier de transfert :



Amersham WB sponge

Deux éponges sont utilisées lors de la préparation du sandwich de transfert Les éponges doivent être remplacées après chaque analyse.

L'illustration ci-dessous montre une éponge.



3.7.2 Anticorps secondaires – sondage

Introduction

Les protéines cibles sont identifiées par sondage de la membrane avec des anticorps primaires et des anticorps secondaires CyDye conjugués spécifiques d'une espèce. En utilisant des anticorps primaires de deux espèces différentes souris et lapin), un anticorps secondaire Cy3 conjugué et un anticorps secondaire Cy5 conjugué, une analyse multiplexée détectant deux protéines simultanément sur la même membrane peut être réalisée.

Les variantes suivantes des anticorps secondaires CyDye conjugués sont disponibles :

- Amersham WB goat anti-mouse Cy3 (Cy3 de chèvre anti-souris)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy3 (Cy3 de chèvre anti-lapin)
- Amersham WB goat anti-mouse Cy5 (Cy5 de chèvre anti-souris)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy5 (Cy5 de chèvre anti-lapin)

CyDye (conjugué aux anticorps secondaires)

Le CyDye conjugué aux anticorps secondaires possèdent leurs propres longueurs d'onde d'excitation et d'émission spécifiques dans le spectre visible et sont différenciés les uns des autres du point de vue spectral, ce qui se traduit par une excitation croisée minimum, voir le tableau ci-dessous.

CyDye	Longueur d'onde d'excitation	Longueur d'onde d'émission
Cy3	550 nm	570 nm
Cy5	649 nm	670 nm

Après excitation, les signaux fluorescent émis sont capturés à l'aide d'un scanner à fluorescence multicanaux dans l'unité Elpho & scan.

Le CyDye possède une photostabilité importante. Le signal sur la membrane sondée est stable pendant >3 mois, si elle est conservée à l'obscurité.

Préparation et conservation des anticorps secondaires reconstitués

Reconstituer les anticorps secondaires dans 150 µl d'eau ultra pure par flacon, à une concentration de 1 µg/µl. Centrifuger les anticorps secondaires reconstitués.

Il est recommandé de conserver les anticorps secondaires sous forme d'aliquotes entre -15°C et -30°C et à l'abri de la lumière. Éviter la répétition des cycles congélation-décongélation.

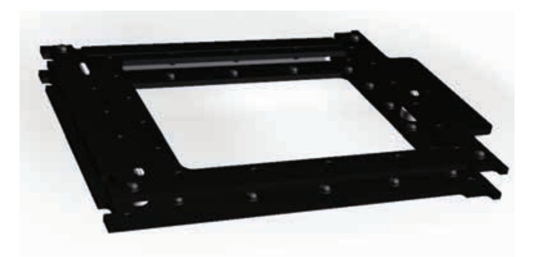
3.7.3 Support de séchage – séchage de plaque PVDF

Introduction

Le Amersham WB drying holder (support de séchage) oriente et fixe la plaque PVDF dans la bonne position afin d'obtenir le meilleur résultat de séchage possible.

Illustration du support de séchage

Les illustrations ci-dessous présentent le support de séchage quand il est fermé (ci-dessus) et quand il est ouvert (ci-dessous) :





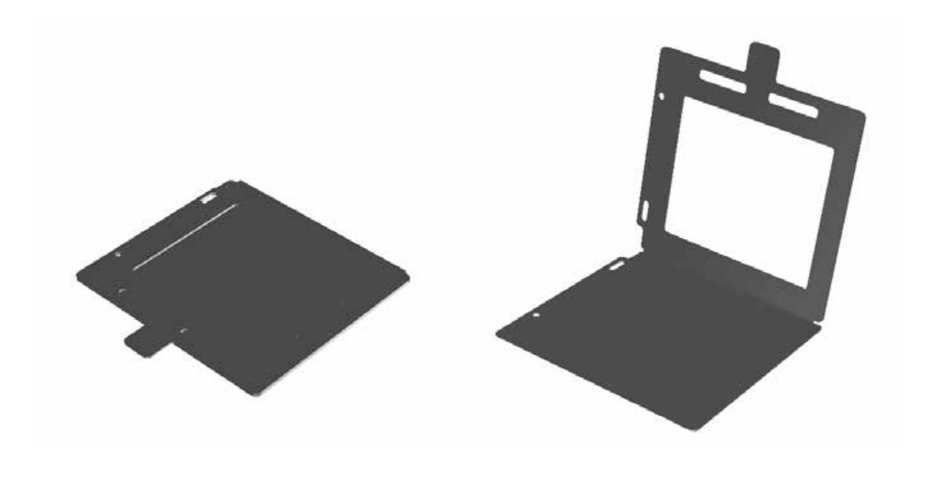
3.7.4 Adaptateur de membrane – Balayage de la plaque PVDF

Introduction

Le Amersham WB membrane adapter (adaptateur de membrane) oriente et fixe la plaque PVDF dans la bonne position afin d'obtenir le meilleur balayage et la meilleure détection dans l'unité du Elpho & scan.

Illustration de l'adaptateur de membrane

Les illustrations ci-dessous montrent l'adaptateur de membrane quand il est fermé (à gauche) et quand il est ouvert (à droite) :



3.8 Autres accessoires

Lecteur de balises matricielles

Le lecteur de balises matricielles est utilisé pour saisir des informations sur la plaque de gel et PVDF (code produit, ID et numéro de lot) dans le logiciel en lisant les balises matricielles de données et l'étiquette de l'emballage unique de la plaque PVDF. Il doit être commandé séparément (voir *Informations relatives à la commande* dans Amersham WB system User Manual).

L'illustration ci-dessous montre le lecteur de balises matricielles.



Support de filtre d'entrée

Les supports de filtre d'entrée, avec les filtres d'entrée, sont fixés aux tubes d'entrée insérés dans les flacons placés sur le porte-flacons. Les particules sont filtrées par le filtre d'entrée, le support de filtre d'entrée lui-même constitue un poids qui maintient la tubulure en place au fond des flacons.

L'illustration ci-dessous montre un support de filtre d'entrée, avec un filtre d'entrée monté et fixé à la tubulure.



Porte-tubes

Pour compenser les tensions présentes quand la tubulure est placée dans les flacons et éviter que ces derniers ne se renversent quand le niveau du liquide diminue, un support de tubulure doit être fixé à la tubulure. Voir l'illustration ci-dessous :



Accessoires supplémentaires pouvant être installés par l'utilisateur

Les électrodes de transfert et les guides du dispositif de séchage de membrane doivent être installés par l'utilisateur.

Voir *Installer les électrodes de transfert, en page 98* et *Installer les guides du dispositif de séchage de la membrane dans le compartiment de séchage, en page 106* pour plus d'informations.

Accessoires de maintenance par l'utilisateur

Pour une description des accessoires de maintenance par l'utilisateur, voir *Accessoires de maintenance, en page 203*.

3.9 Présentation du logiciel

Introduction

Cette section offre une présentation du Amersham WB software.

Illustration de l'écran de démarrage du logiciel

Sur l'écran de démarrage du logiciel, il est possible de créer de nouvelles analyses et d'ouvrir des analyses précédemment sauvegardées. Pour plus d'informations sur la création et la configuration d'une analyse, voir *Créer et configurer une analyse, en page 123*.

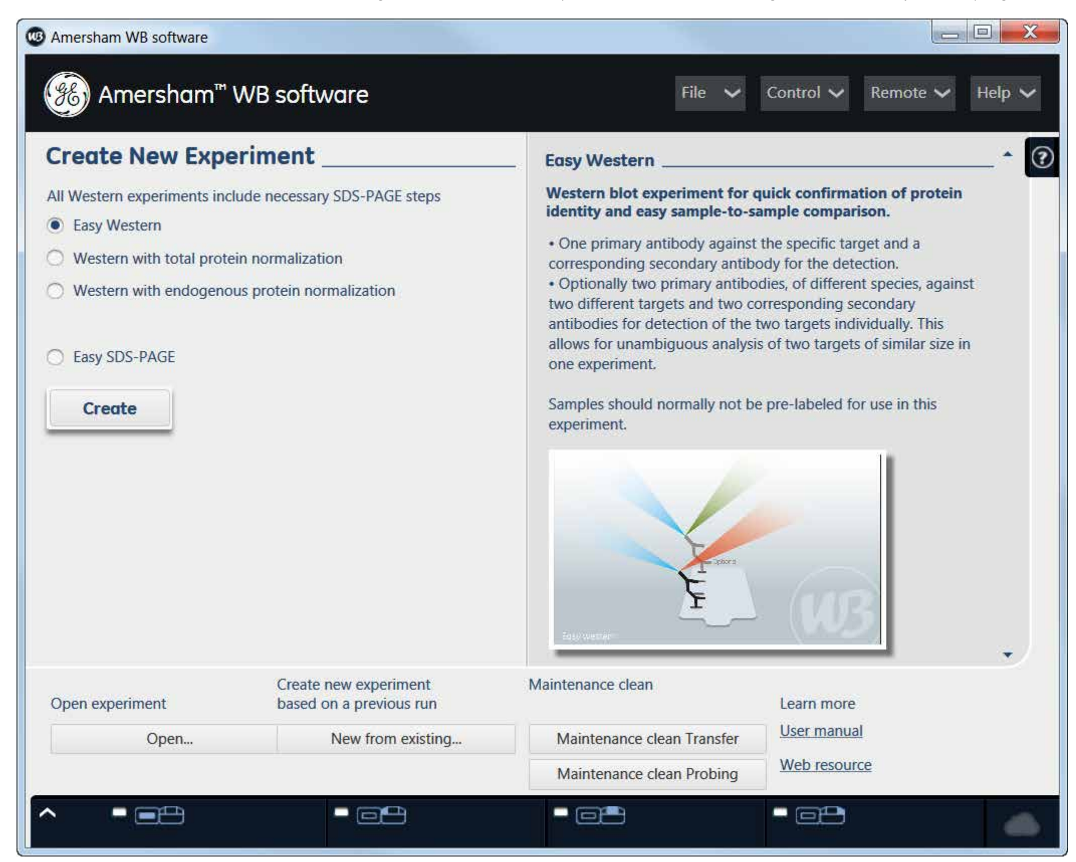
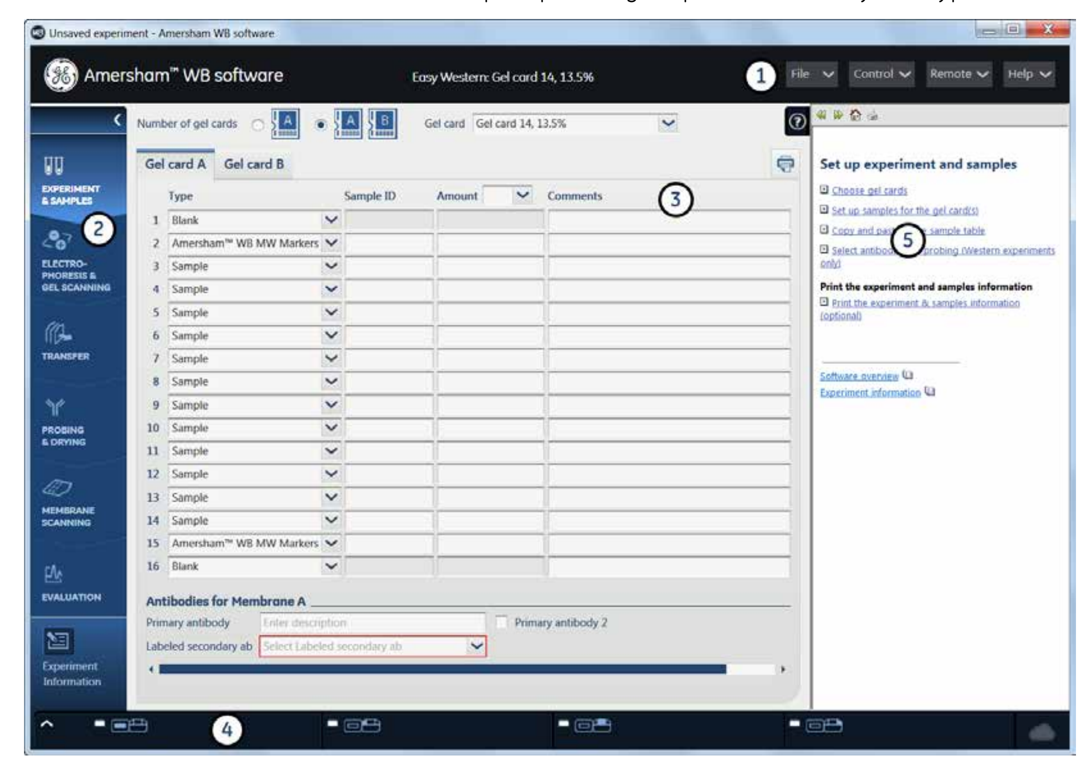


Illustration de l'écran principal du logiciel

L'illustration montre l'écran principal du logiciel pendant une analyse de type Western.



Aire	Description
1	***Barre de menu*** La barre de menu est constituée de quatre menus : • ***File*** : Créer, ouvrir et sauvegarder des analyses. Imprimer des informations et quitter le logiciel. • ***Control*** : Interrompre une analyse, vider la chambre de transfert et de sondage, lancer le nettoyage des circuits de transfert et de sondage. • ***Remote*** : Connecter et déconnecter l'accès distant à l'instrument. Extraire les codes d'accès à l'instrument et gérer les utilisateurs distants. Modifier la configuration de la connexion distante. ***Remarque :*** *Uniquement visible quand un instrument est connecté.* • ***Help***: Générer des rapports système. Ouvrir le volet Aide, le manuel de l'utilisateur et ***About Amersham WB*** la boîte de dialogue.
2	***Volet Flux de travail*** Le volet Flux de travail montre les différentes étapes dans le logiciel du flux de travail pour une analyse. Il est possible d'avancer et de reculer pour visualiser et modifier des informations et des paramètres dans les différentes étapes du flux de travail avant de lancer une analyse (c'est-à-dire, électrophorèse, transfert, sondage, séchage ou balayage de la membrane). Il est toujours possible de revenir en arrière et de modifier le texte dans les champs d'information des différentes étapes du flux de travail pendant et après une analyse. Par exemple, le tableau des échantillons peut être rempli après qu'une électrophorèse a été lancée. ***Remarque :*** *Pour une analyse de type électrophorèse, les étapes du flux de travail **TRANSFER**, **PROBING & DRYING** et **MEMBRANE SCANNING** sont estompées. Ces étapes ne sont incluses que dans les analyses de type Western.*
3	***Zone de travail*** La zone de travail affiche des informations textuelles, des paramètres et des contrôles pour l'étape du flux de travail actuellement affichée.

Aire	Description
4	***Panneau d'état de l'instrument*** Le panneau d'état de l'instrument affiche l'état de la connexion de l'instrument. Quand l'instrument est connecté, l'état de chaque module matériel (compartiment d'électrophorèse et de balayage, réservoir de transfert, compartiment de sondage et compartiment de séchage) ainsi que la progression de toute analyse dans les modules sont affichés. Plusieurs analyses peuvent être ouvertes simultanément. Chaque analyse exige l'ouverture d'une nouvelle instance du logiciel. Le panneau d'état de l'instrument affiche l'état de l'instrument pour toutes les analyses ouvertes. Un module matériel matériel peut être utilisé par une seule analyse à la fois. Ceci signifie que quatre étapes de flux de travail différentes provenant de quatre analyses différentes peuvent être exécutées en parallèle.
5	***Panneau d'aide*** Le panneau d'aide affiche les instructions d'aide pour l'écran actuellement affiché dans la zone de travail. Lors de la sélection d'une nouvelle étape dans le flux de travail, les instructions d'aide sont automatiquement mises à jour pour afficher l'aide de l'écran actif. ***Astuce :*** *Pour voir le manuel d'utilisation contenant les informations détaillées à propos du système, sélectionner* ***Help:View user manual*** *dans la barre de menu ou appuyer sur* ***Ctrl+F1****.*

4 Installation

À propos de ce chapitre

Ce chapitre décrit l'installation du Amersham WB system.

Dans ce chapitre

Ce chapitre comporte les sections suivantes :

4.1 Préparation du site

À quoi sert la préparation du site ?

Le site du laboratoire doit être prévu et préparé avant l'installation du Amersham WB system. Les spécifications de performance du système ne peuvent être remplies que si l'environnement du laboratoire respecte les exigences établies dans cette section. Toujours respecter les réglementations locales en matière de sécurité.

Caractéristiques de la salle



AVERTISSEMENT

Placer le Amersham WB analyzer dans une pièce disposant d'une ventilation par aspiration si du méthanol ou d'autres produits chimiques nécessitant une ventilation sont utilisés.

Les unités de l'instrument ne doivent pas être exposées à la lumière directe du soleil. La présence de poussière dans l'atmosphère doit être réduite au minimum.

Les limites des plages de température et d'humidité sont spécifiées dans le tableau ci-dessous.

Paramètre	Plage autorisée
Température ambiante, fonctionnement	15 °C à 32 °C Pour les meilleures performances : 16 °C à 28 °C
Température ambiante, stockage et transport	-25 à +60 °C
Humidité relative, fonctionnement	20 % à 80 %, sans condensation Pour les meilleures performances : 20 % à 70 %, sans condensation
Altitude	2 000 m maximum
Environnement	À usage intérieur uniquement

Espace requis

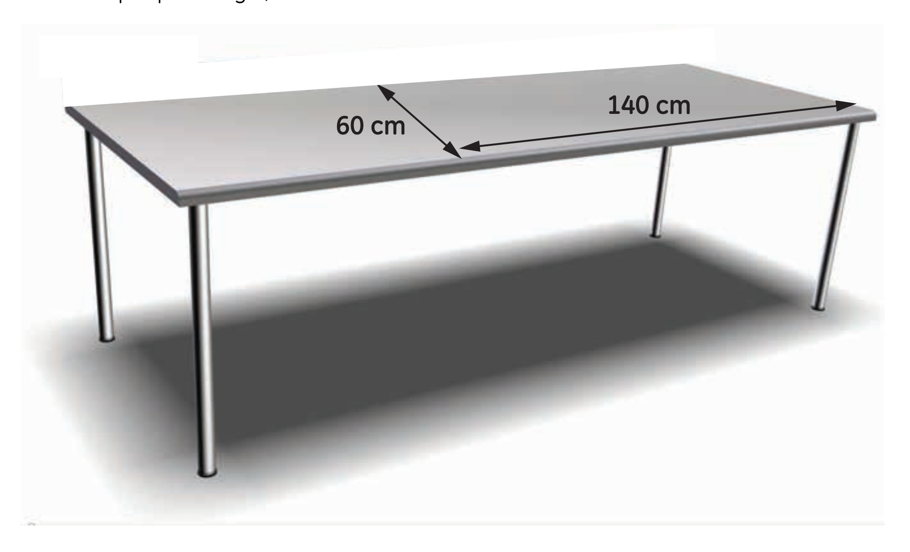


AVERTISSEMENT

Ne pas bloquer l'accès à l'interrupteur et au cordon d'alimentation. L'interrupteur électrique doit toujours être facilement accessible. Le cordon d'alimentation doté d'une prise doit toujours être facile à débrancher.

Les unités de l'instrument doivent être placées sur une paillasse de laboratoire. La paillasse doit être propre, plate, de niveau, stable et capable de supporter le poids du Amersham WB system (unités de l'instrument : 45 kg + le poids de l'ordinateur portable et des liquides introduits dans l'unité Western).

Pour les exigences relatives à l'espace, voir ci-dessous. Laisser un espace d'au moins 10 cm derrière les unités de l'instrument pour la ventilation. L'espace nécessaire pour les deux unités est de 90 cm. Cependant, il est recommandé de disposer d'un espace de 140 cm sur la paillasse pour pouvoir procéder à la préparation des réactifs, à la manipulation des plaques de gel, etc.



Caractéristiques d'alimentation

Voir *Section 7.1 Spécifications du système, en page 217*.

Exigences informatiques

Paramètre	Données
Système d'exploitation	Windows 7 Professional, 32-bit or 64-bit, version française
Navigateur Internet	Windows Internet Explorer 8 ou supérieur
Résolution de l'écran	Résolution de 1280 × 800 ou supérieure
Performance	Minimum : 2 Go de mémoire physique Recommandé : 4 Go de mémoire physique

Remarque : *L'ordinateur doit être installé, placé et utilisé conformément aux instructions et spécifications fournies par son fabricant.*

4.2 Installation du matériel

Déballer le Amersham WB analyzer

Voir *Amersham WB analyzer Instructions de déballage*.

Soulever les unités de l'instrument sur la paillasse



AVERTISSEMENT

S'assurer que le système est placé sur un banc uniforme et stable avec un espace approprié pour la ventilation.



AVERTISSEMENT

Ne pas bloquer l'accès à l'interrupteur et au cordon d'alimentation. L'interrupteur électrique doit toujours être facilement accessible. Le cordon d'alimentation doté d'une prise doit toujours être facile à débrancher.



MISE EN GARDE

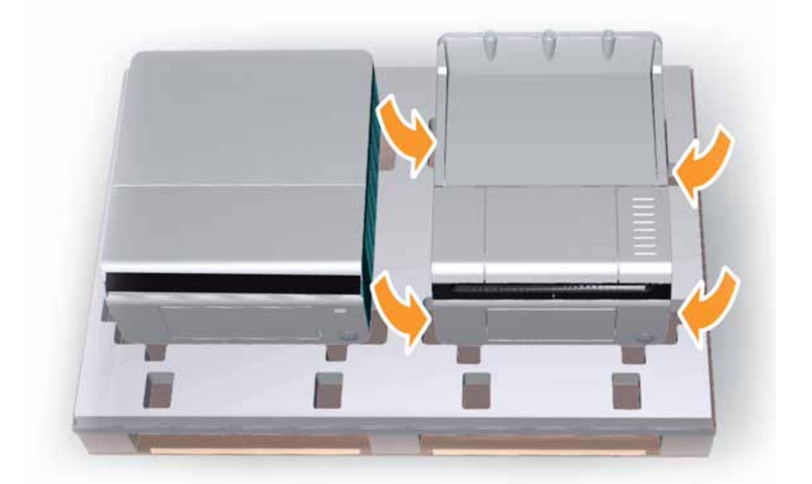
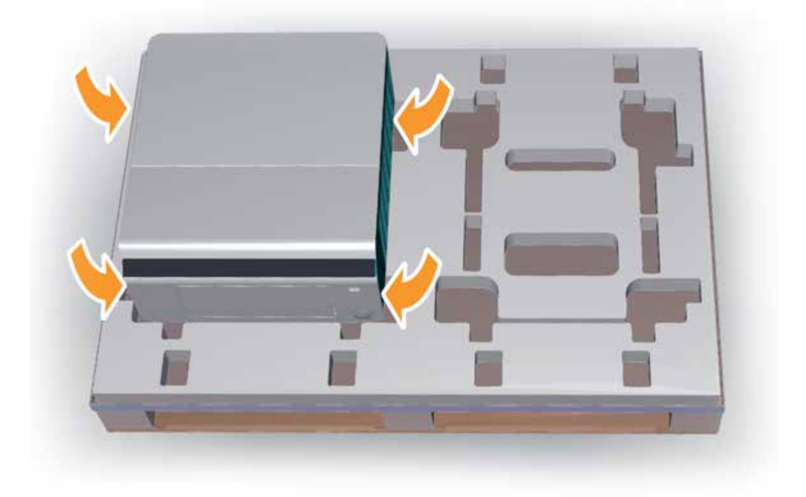
Équipement de protection individuelle (EPI). En cas d'emballage, déballage, transport ou déplacement du système, porter :

- des chaussures de sécurité, de préférence avec une doublure en acier
- des gants de travail protégeant contre les arêtes tranchantes.
- Lunettes de protection



MISE EN GARDE

Objet lourd. Deux personnes sont nécessaires pour soulever l'instrument en toute sécurité.

Étape	Action
1	Soulever les unités de l'instrument à la main en utilisant l'espace laissé libre entre les unités. S'assurer que les unités reposent sur une paillasse stable, horizontale.
2	Soulever la première unité de l'instrument. Prendre une prise au-dessous et sur le côté de l'instrument dans les cavités de la mousse. La placer sur la paillasse. 
3	Soulever l'autre unité de l'instrument et la placer sur la paillasse. 

Étape	Action
4	Pour permettre une bonne ventilation, l'unité Elpho & scan doit être placée sur la gauche et l'unité Western doit être à droite. Laisser au moins un espace de 10 cm derrière les unités de l'instrument pour la ventilation. Ne pas bloquer l'accès à l'interrupteur et au cordon d'alimentation.
5	Régler les pieds de manière à ce que les unités soient horizontales. Ceci est particulièrement important pour l'unité Western.
6	Si cela n'est pas déconseillé par le fabricant et si l'ordinateur est un ordinateur portable, il est possible de le placer au-dessus de l'unité Elpho & scan. Voir les spécifications environnementales de l'ordinateur. S'il s'agit d'un ordinateur fixe, le moniteur et le clavier peuvent être placés au-dessus de l'unité Elpho & scan. L'unité informatique du système ne doit pas être placée au-dessus. 

Retirer le système de sécurité pendant le transport de l'unité Elpho & scan

Pour protéger les composants fragiles du scanner de l'unité Elpho & scan, un système de sécurité pendant le transport est utilisé.

Retirer le système de sécurité pendant le transport avec précautions avant la mise sous tension.



Installer les électrodes de transfert



AVERTISSEMENT

Débrancher l'alimentation. Toujours débrancher l'alimentation de l'instrument avant de remplacer un de ses composants, sauf mention contraire dans le manuel d'utilisation.

Étape	Action
1	Ouvrir le couvercle du réservoir de transfert.

Étape	Action
2	Insérer l'électrode de transfert de gauche à l'extrême gauche du réservoir de transfert et appuyer. 
3	Insérer l'électrode de transfert de droite à l'extrême droite du réservoir de transfert et appuyer. 
4	Fermer le couvercle du réservoir de transfert.

Connecter les unités de l'instrument et l'ordinateur et brancher les cordons d'alimentation



AVERTISSEMENT

Mise à la terre de sécurité et cordon d'alimentation.

Le Amersham WB analyzer doit toujours être raccordé à une prise électrique mise à la terre.

Utiliser uniquement un cordon d'alimentation à 3 fils fourni ou homologué par GE, ou conforme aux exigences de la réglementation électrique locale en vigueur.



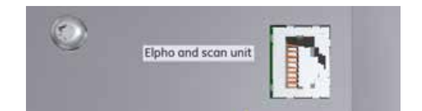
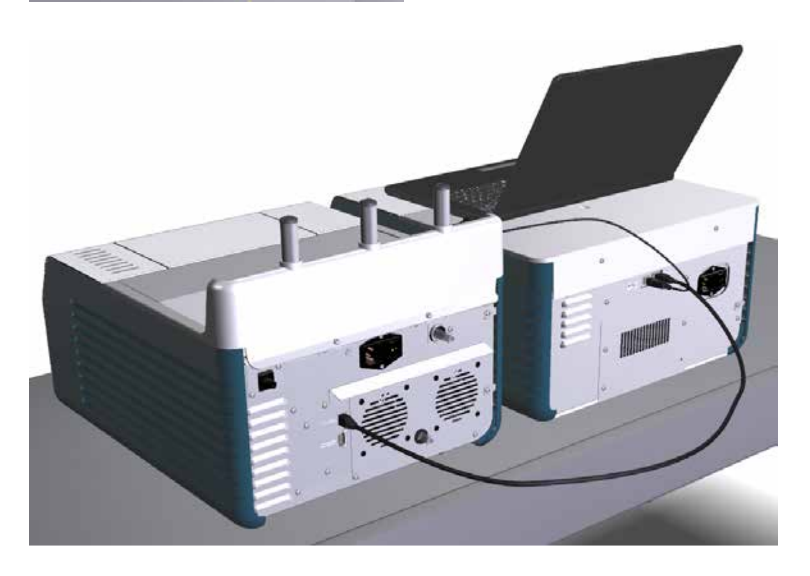
AVERTISSEMENT

Tension d'alimentation. S'assurer que la tension d'alimentation au niveau de la prise murale correspond au marquage de l'instrument avant de connecter le cordon d'alimentation.



AVIS

Tout ordinateur utilisé avec l'instrument doit être conforme à la norme IEC/EN/UL/CSA 60950-1 ou autres réglementations en matière de sécurité. Il doit être installé et utilisé conformément aux instructions du fabricant.

Étape	Action
1	Connecter l'ordinateur à l'unité Elpho & scan (contact : **Computer**) à l'aide du câble USB fourni.  ***Remarque :*** *Il est recommandé de désactiver le mode Veille de l'ordinateur ou de le régler sur 3 heures quand il est connecté au Amersham WB analyzer. Quand il passe en mode Veille, la connexion avec l'accès à distance de l'instrument va être interrompue, ce qui signifie que l'état de l'analyse ne sera pas mis à jour jusqu'à ce que l'ordinateur soit à nouveau actif.*
2	Connecter l'unité Elpho & scan (contact : **Western unit**) à l'unité Western (contact : **Elpho and scan unit**) à l'aide du câble Ethernet fourni.  

Étape	Action
3	Brancher les cordons d'alimentation aux connecteurs d'alimentation électrique des unités. 
4	Brancher les cordons d'alimentation à une prise murale mise à la terre. Voir *Section 7.1 Spécifications du système, en page 217* pour plus d'informations sur la tension et la fréquence.

Remarque : *Ne pas activer l'interrupteur d'alimentation secteur avant que toutes les connexions ne soient faites.*

Assembler les tours de tubulure de l'unité Western

Les tours de tubulure pour la tubulure de l'unité Western ne sont pas préassemblées dans le conditionnement de livraison et doivent être assemblées par l'utilisateur.

Étape	Action
1	Ouvrir la poche en plastique contenant les tours et la tubulure.

Étape	Action
2	Appuyer vers le bas sur chacune des tours et les faire tourner dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'elles s'enclenchent en position. La tubulure doit être installées comme suit :

Position de la tour (vue depuis l'avant de l'instrument)	Tubulure
Gauche	**T buffer** et **T water**
Milieu	**P water**, **P block** et **P wash**
Droite	**P Final wash** et **P Custom**

Remarque :

Veiller à ne retirer aucune des étiquettes des tubulures pendant le montage des tours.



Attacher les supports de tubulure

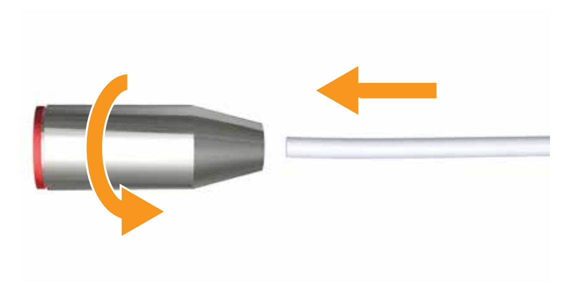
Pour compenser les tensions présentes quand la tubulure est placée dans les flacons et éviter que ces derniers ne se renversent quand le niveau du liquide diminue, un support de tubulure doit être fixé à toutes les tubulures.

Remarque : *Des supports de tubulure doivent être fixés à toutes les tubulures avant que les filtres d'entrée ne soient attachés.*

Étape	Action
1	Insérer une tubulure à l'intérieur de l'orifice du support de tubulure.
2	Continuer à insérer l'extrémité ouverte de la tubulure dans la fente du support de tubulure. ***Remarque :*** *S'assurer que les étiquettes de la tubulure sont encore attachées à celle-ci. Il n'est pas nécessaire que l'étiquette se trouve à l'intérieur du support de tubulure.* 

Attacher les filtres d'entrée à la tubulure

Insérer la tubulure dans le support de filtre avec filtre d'entrée et faire tourner le support de filtre pour attacher la tubulure.



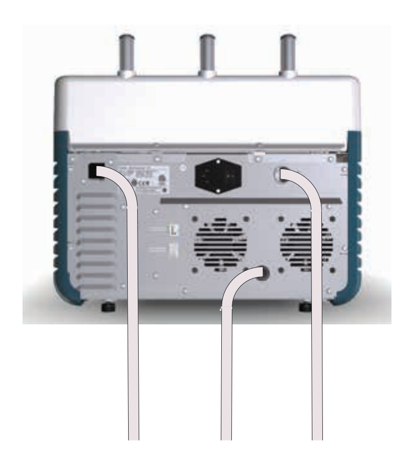
Positionner la tubulure des déchets et le déversoir



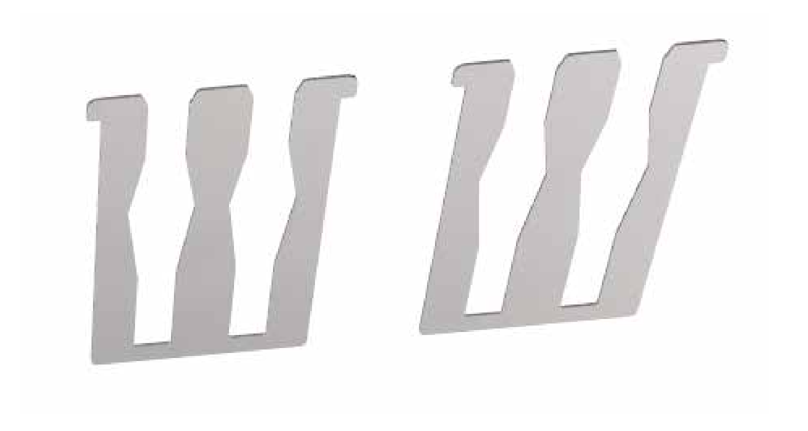
MISE EN GARDE

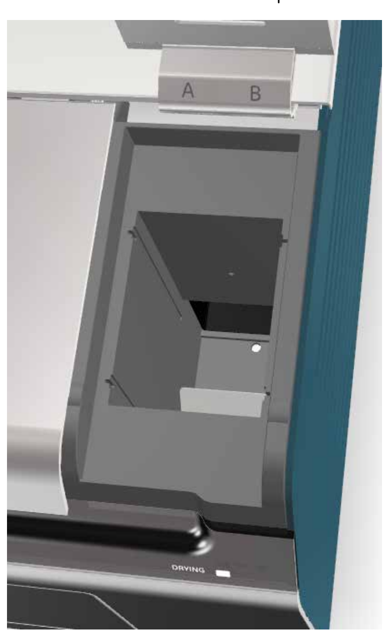
La tubulure des déchets et le déversoir doivent être attachés de façon appropriée pour éviter qu'ils ne tombent à l'extérieur du récipient des déchets.

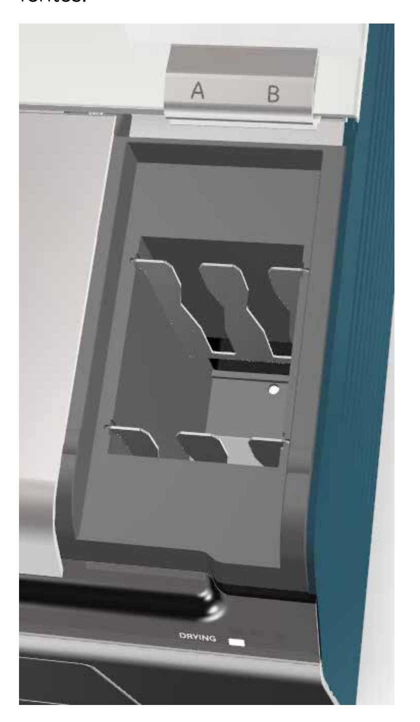
Placer la tubulure des déchets et le déversoir de manière à ce que leurs sorties se trouvent au-dessous du niveau de la paillasse sur laquelle est installé le Amersham WB analyzer. Couper la tubulure à la longueur appropriée et l'attacher pour éviter qu'elle ne risque de chuter hors du récipient des déchets.

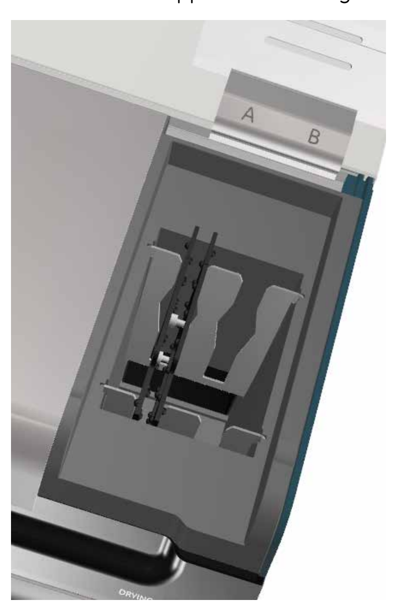


Installer les guides du dispositif de séchage de la membrane dans le compartiment de séchage

Étape	Action
1	Ouvrir la poche en plastique contenant les deux guides du dispositif de séchage de la membrane. 

Étape	Action
2	Ouvrir le couvercle du compartiment de séchage. 

Étape	Action
3	Placer les guides du dispositif de séchage de la membrane dans les deux fentes. 

Étape	Action
4	Conserver les supports de séchage dans le compartiment de séchage. 

Installer un lecteur de balises matricielles (en option)

Étape	Action
1	Connecter le câble USB au lecteur de balises matricielles.
2	Connecter le câble USB à l'ordinateur.
3	Programmer et vérifier le fonctionnement du lecteur de balises matricielles comme indiqué dans son manuel d'utilisation.

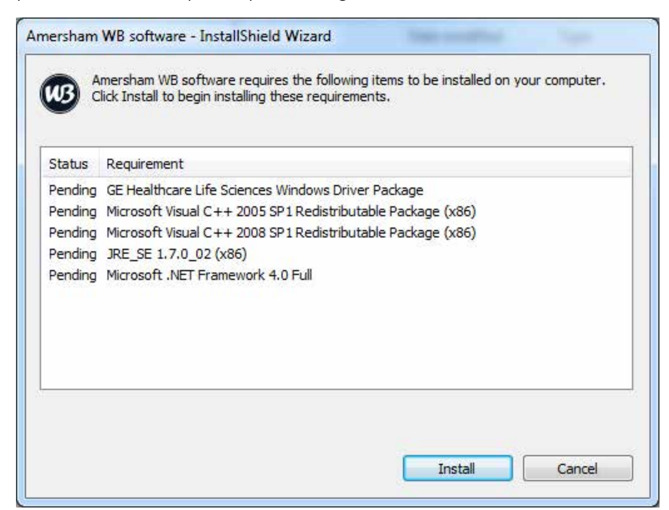
4.3 Installation du logiciel

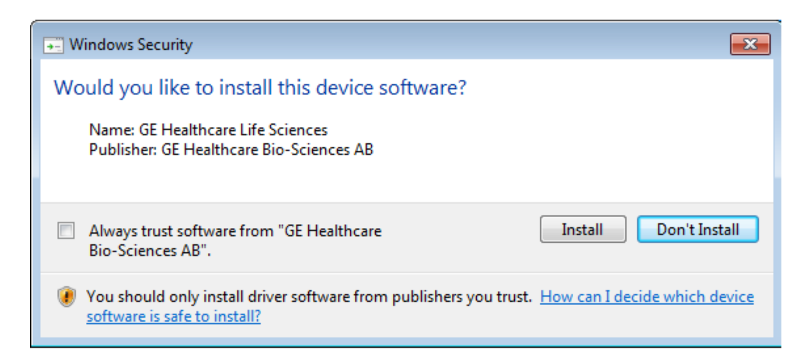
Installer le Amersham WB software

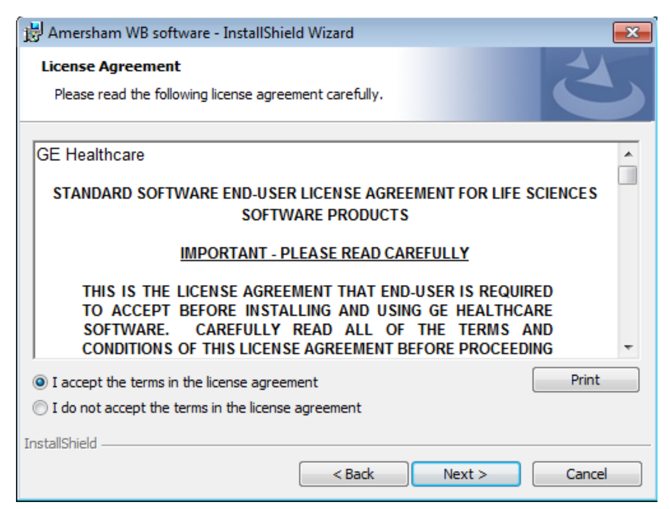
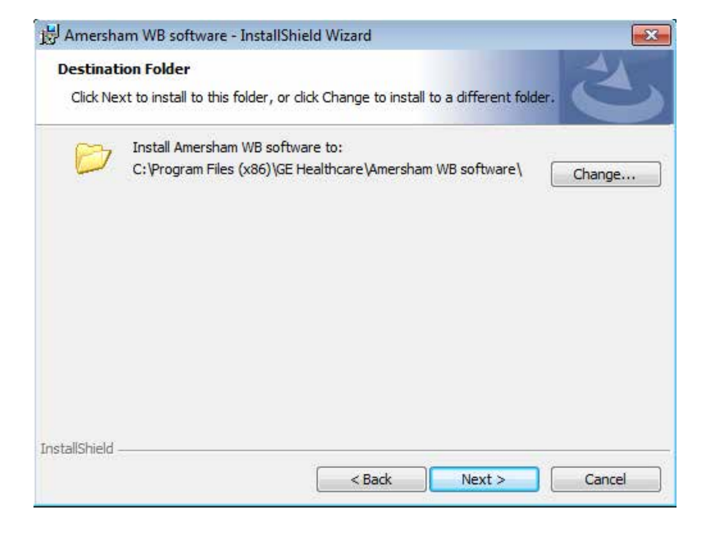
Pour installer le logiciel sur un ordinateur sous Windows 7 Professional:

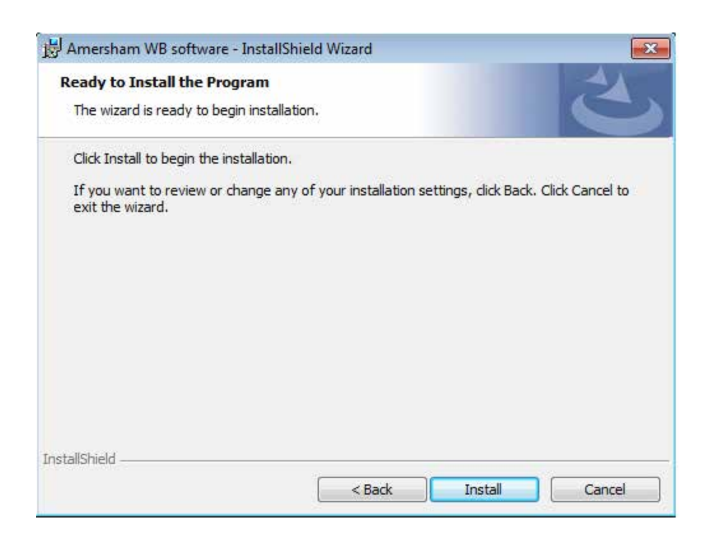
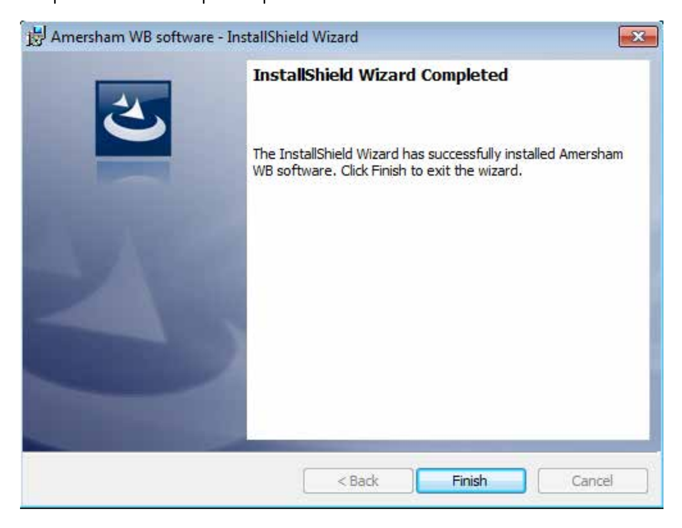
Remarque : *Il est recommandé d'installer toutes les mises à jour de Windows en attente avant d'installer le logiciel et de bien respecter les instructions.*

*Il est recommandé de procéder à la totalité de la procédure d'installation (sans interruptions) après avoir cliqué sur **Install**.*

Étape	Action
1	Insérer le DVD du logiciel dans l'ordinateur. Quand la première boîte de dialogue de l'assistant s'affiche, cliquer sur ***Install*** pour installer les prérequis du logiciel. 

Étape	Action
2	Quand la boîte de dialogue ***Windows Security*** s'affiche, cliquer sur le bouton ***Install***.
	
3	Quand tous les prérequis ont été installés avec succès, commencer l'installation du logiciel en cliquant sur ***Next*** dans la boîte de dialogue ***Welcome to the InstallShield Wizard for Amersham WB software***.
	

Étape	Action
4	Lire le contrat de licence du logiciel. Quand vous avez lu et accepté le contrat de licence, sélectionner l'option ***I accept....*** et cliquer sur ***Next***. 
5	• Pour modifier le répertoire par défaut (non recommandé), cliquer sur ***Change*** et naviguer vers le répertoire souhaité. • Cliquer sur ***Next*** 

Étape	Action
6	• Pour revoir ou modifier les paramètres d'installation, cliquer sur ***Back***. • Pour commencer l'installation, cliquer sur ***Install***. 
7	Cliquer sur ***Finish*** pour quitter l'assistant d'installation. 

Vérifier les communications de l'instrument

Étape	Action
1	Mettre l'ordinateur, l'unité Elpho & scan et l'unité Western sous tension.
2	Démarrer le Amersham WB software. *Résultat :* Le logiciel va afficher les communications établies avec les unités de l'instrument. Si la communication n'est pas établie : • Les connexions du câble ou du cordon d'alimentation peuvent être incorrectes : Vérifier toute l'installation matérielle. • La routine du pilote USB peut être incorrecte : Changer de port USB sur l'ordinateur.

5 Réaliser une expérience

À propos de ce chapitre

Ce chapitre offre une présentation des deux principaux types d'analyses qui peuvent être réalisés à l'aide du Amersham WB system. Il décrit aussi le flux de travail d'une analyse de type ***Western with total protein normalization***.

Précautions d'emploi



MISE EN GARDE

Toujours porter des gants, des vêtements et des lunettes de protection lors de l'utilisation et l'entretien du Amersham WB analyzer.

Dans ce chapitre

Ce chapitre contient les sections suivantes :

5.1 Vue d'ensemble

Introduction

Cette section donne une présentation des deux principaux types d'analyses qui peuvent être réalisés :

- analyses par électrophorèse
- analyses de type Western (comportant une électrophorèse des protéines)

Cette section décrit également le flux de travail d'une analyse typique (décrite dans les sections suivantes), illustré par une analyse de type ***Western with total protein normalization***.

Analyses par électrophorèse

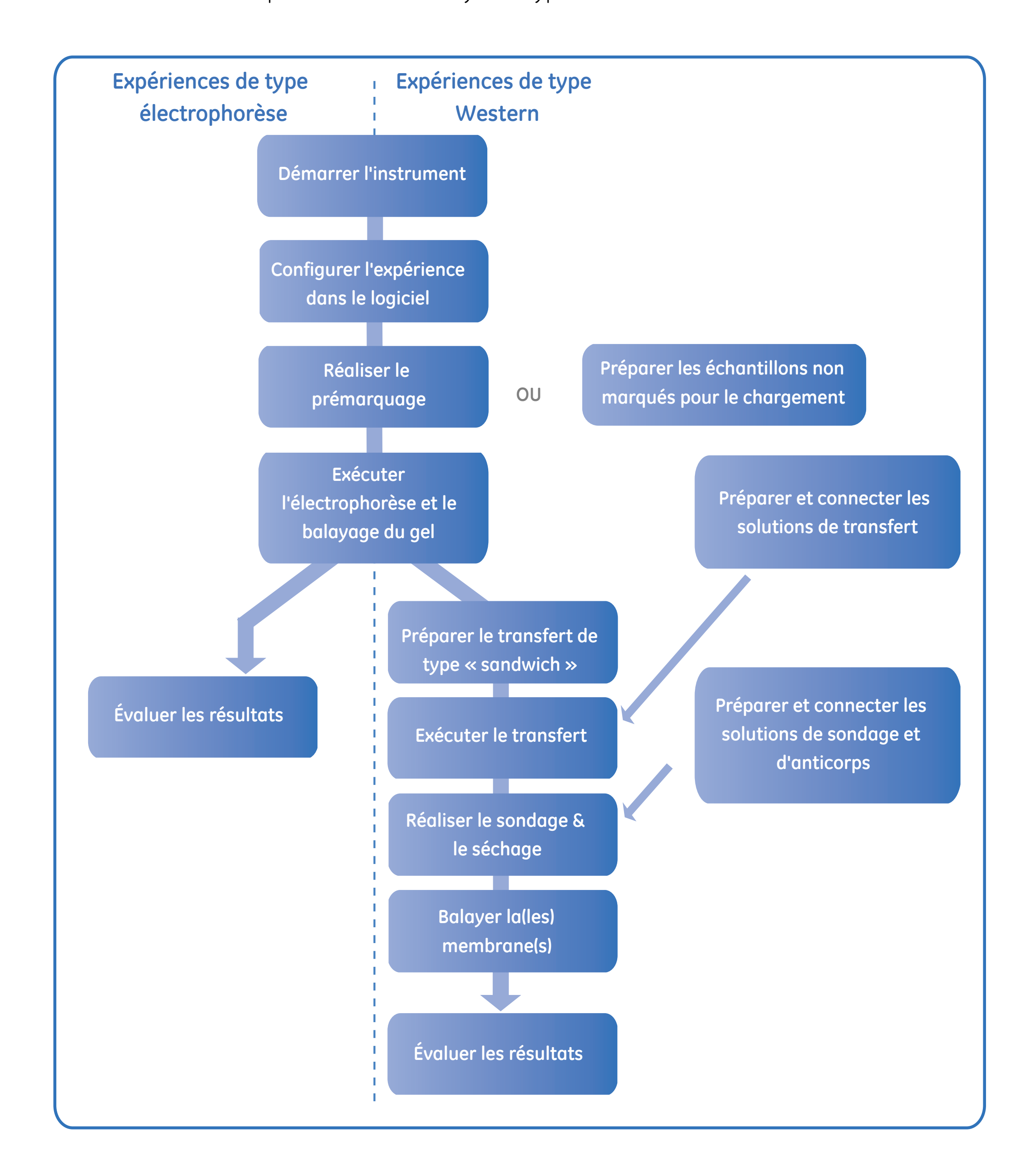
Lors des analyses par électrophorèse, les échantillons sont prémarqués à l'aide du colorant fluorescent Cy5 avant l'électrophorèse. Ceci permet une détection directe des protéines prémarquées dans l'échantillon, ce qui élimine ainsi la nécessité d'une coloration postérieure du gel. Au cours de l'étape Évaluation qui suit le balayage du gel, une analyse automatique des bandes protéiques est réalisée dont les résultats sont présentés dans le logiciel.

Analyses de type Western

Analyse de type , les protéines non marquées ou prémarquées par le Cy5 sont séparées sur le gel pendant l'électrophorèseWestern puis transférées du gel vers une membrane. La membrane est sondée avec des anticorps primaires et des anticorps secondaires conjugués aux colorants Cy3 ou Cy5 pour la détection des protéines cibles. Pour la détection des protéines totales, l'échantillon est prémarqué par le Cy5. Après le sondage, la membrane est séchée puis balayée. Au cours de l'étape Évaluation, une analyse automatique des bandes protéiques est réalisée dont les résultats sont présentés dans le logiciel.

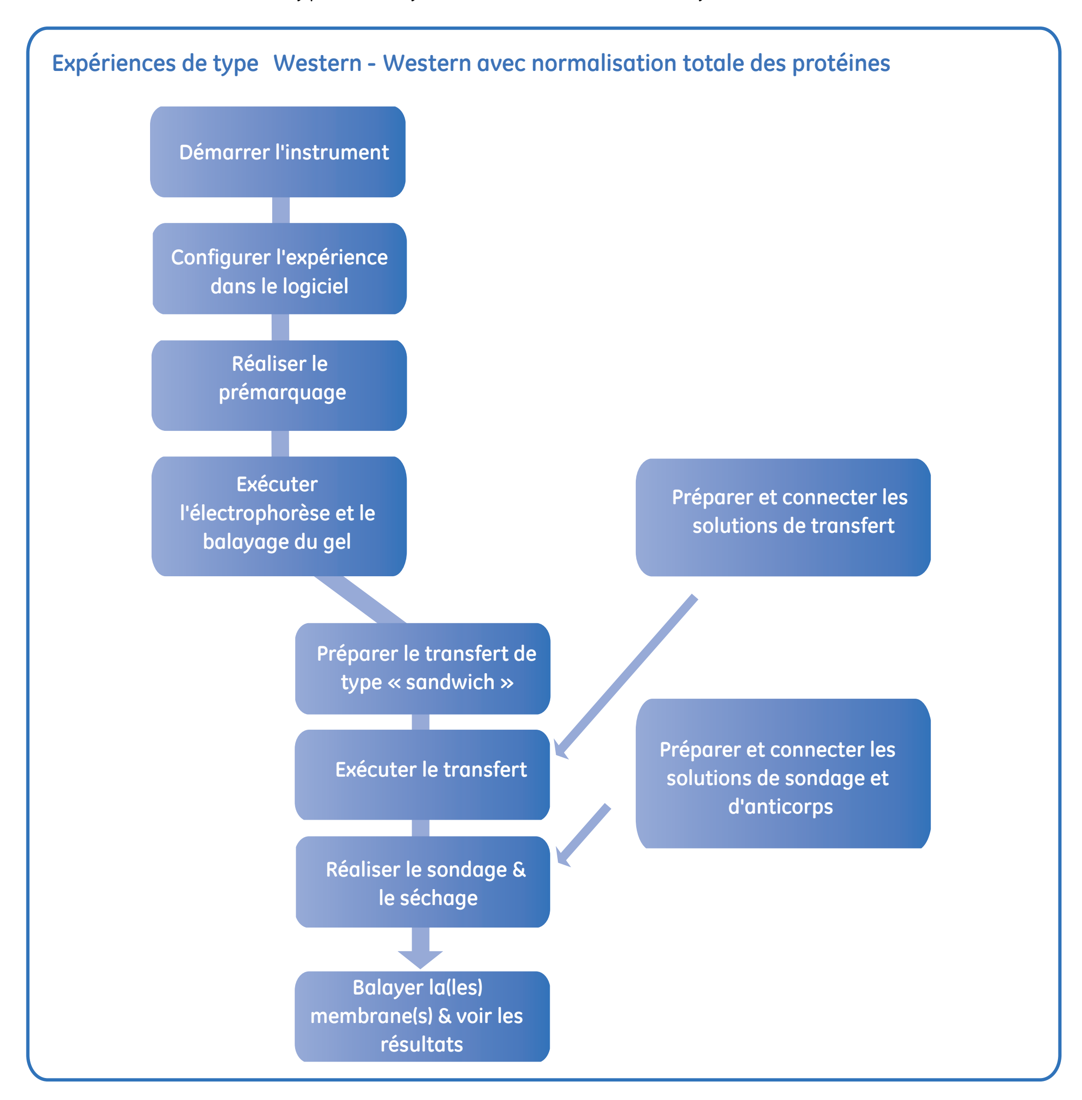
Présentation du flux de travail général

Analyse de type L'illustration ci-dessous montre les principales étapes d'une analyse par électrophorèse et d'une analyse de type Western.



Flux de travail – analyse de type Western avec normalisation des protéines totales

L'illustration ci-dessous montre les principales étapes d'une analyse de type ***Western with total protein normalization***. Ce flux de travail est utilisé pour montrer comment réaliser une analyse typique, il est décrit plus en détail dans les sections suivantes. Pour d'autres types d'analyses, voir le Amersham WB system User Manual.



Le tableau ci-dessous récapitule les sections dans lesquelles les étapes sont décrites.

Étape	Voir...
Démarrer l'instrument	*Section 5.2 Démarrer le Amersham WB analyzer, en page 120*
Configurer une analyse dans le logiciel	*Section 5.3 Configurer une analyse dans le logiciel, en page 122*
Réaliser le prémarquage	*Section 5.4 Réaliser le prémarquage des échantillons, en page 126*
Exécuter une électrophorèse et un balayage	*Section 5.6 Réaliser une électrophorèse des protéines, en page 131*
Préparer et connecter les solutions de transfert	*Section 5.7.1 Préparer et connecter les solutions de transfert, en page 145*
• Préparer le sandwich de transfert • Exécuter le transfert	*Section 5.7 Réaliser le transfert, en page 144*
Préparer et connecter les solutions de sondage et d'anticorps	*Section 5.8.1 Préparer et connecter les solutions de sondage et d'anticorps, en page 169*
Réaliser le sondage et le séchage	*Section 5.8 Réaliser le sondage et le séchage, en page 168*
Balayer la membrane et voir les résultats	*Section 5.9 Balayer la membrane et voir les résultats, en page 184*

Trouver plus d'informations

Pour obtenir des informations contextuelles et des détails sur la procédure de planification des analyses, consulter le *Amersham WB system User Manual*. Ce dernier est accessible en sélectionnant ***Help:View user manual*** dans la barre de menu du logiciel.

Pour plus de détails relatifs au logiciel, se référer à *Amersham WB software help* du logiciel (disponible à partir du volet droit du logiciel).

5.2 Démarrer le Amersham WB analyzer

Introduction

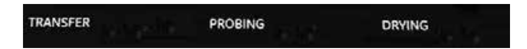
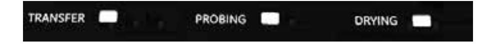
Cette section décrit comment démarrer les unités Amersham WB analyzer. Il est possible de configurer une analyse à l'avance depuis un ordinateur de bureau sans connexion avec l'instrument.

Remarque : *Les unités de l'instrument doivent toujours être sous tension pendant une analyse.*

Démarrer l'unité Amersham WB elpho & scan

Étape	Action
1	Sur le panneau arrière de l'unité Elpho & scan, mettre l'interrupteur d'alimentation secteur sur **I** (ON).  *Résultat :* L'unité Elpho & scan démarre.
2	Pendant le démarrage, le panneau des voyants affiche ce qui suit : ELPHO & SCAN Quand l'unité de l'instrument est prête à être utilisée, un carré blanc s'affiche. ELPHO & SCAN

Démarrer l'unité Amersham WB western

Étape	Action
1	Démarrer l'unité Sur le panneau arrière de l'unité Western, mettre l'interrupteur d'alimentation secteur sur **I** (ON). ***Remarque :*** *L'unité Elpho & scan doit être mise sous tension avant qu'il soit possible de faire fonctionner l'unité Western.*  *Résultat :* L'unité Western démarre.
2	Pendant le démarrage, le panneau des voyants affiche ce qui suit :  Quand les compartiments de l'unité Western sont prêts à être utilisés, un carré blanc s'affiche pour chacun des trois compartiments (transfert, sondage et séchage). 

5.3 Configurer une analyse dans le logiciel

Introduction

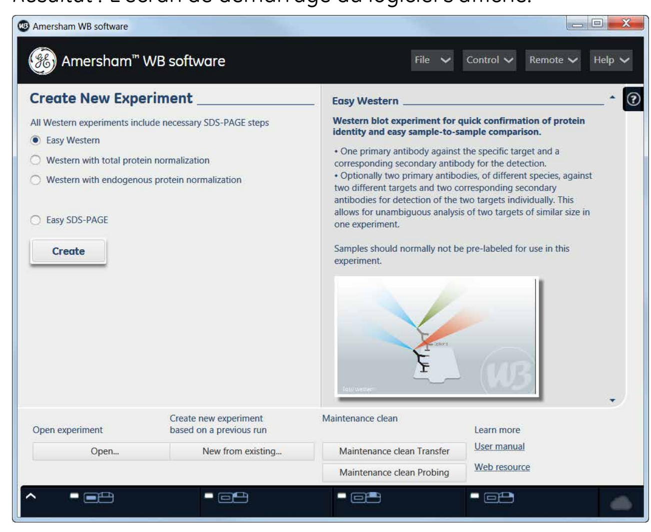
Cette section décrit brièvement comment démarrer le Amersham WB software et configurer une analyse Amersham WB dans le logiciel. Pour des informations détaillées, voir le Amersham WB software Help dans le volet droit du logiciel.

Démarrer le logiciel

Étape	Action
1	Démarrer l'ordinateur et ouvrir une session sur Microsoft Windows.
2	Double-cliquer sur l'icône Amersham WB software sur le bureau.

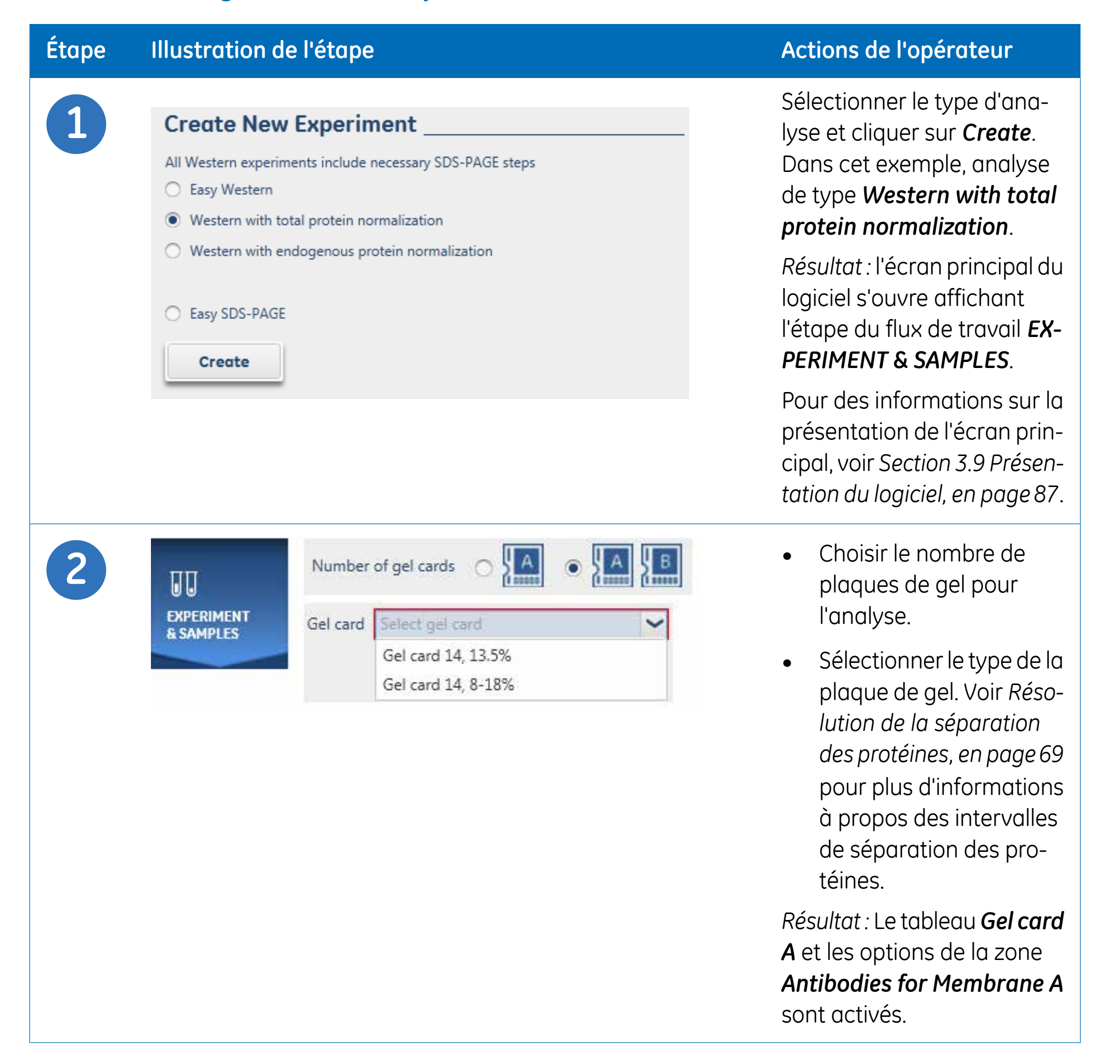


Résultat : L'écran de démarrage du logiciel s'affiche.

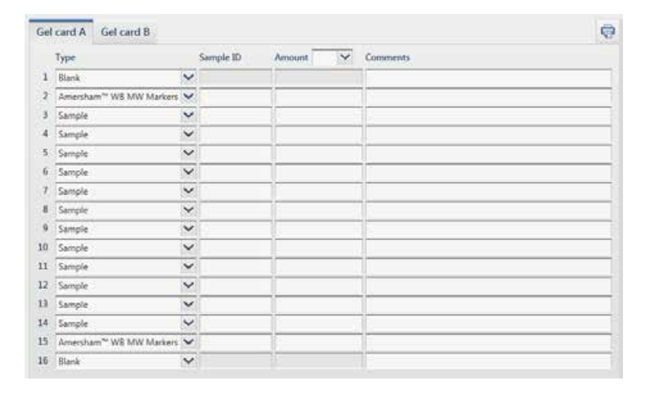


Astuce : *Pour afficher le panneau d'aide avec les instructions d'aide de l'écran actif, cliquer sur le bouton du panneau d'aide ou appuyer sur* ***F1****. Pour ouvrir le manuel d'utilisation, sélectionner* ***Help:View user manual*** *ou appuyer sur* ***Ctrl + F1****.*

Créer et configurer une analyse

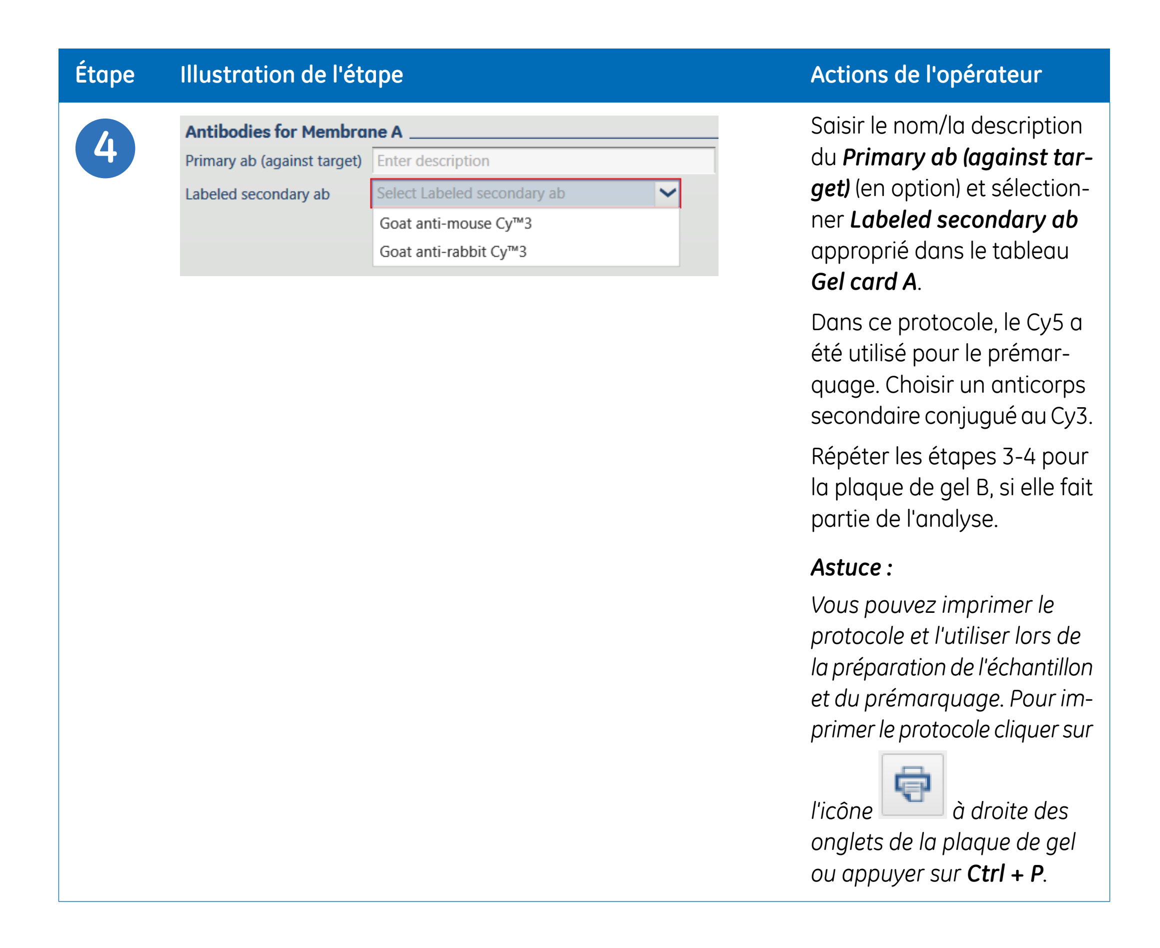


Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		Sélectionner le type d'analyse et cliquer sur ***Create***. Dans cet exemple, analyse de type ***Western with total protein normalization***. *Résultat :* l'écran principal du logiciel s'ouvre affichant l'étape du flux de travail ***EXPERIMENT & SAMPLES***. Pour des informations sur la présentation de l'écran principal, voir *Section 3.9 Présentation du logiciel, en page 87*.
2		• Choisir le nombre de plaques de gel pour l'analyse. • Sélectionner le type de la plaque de gel. Voir *Résolution de la séparation des protéines, en page 69* pour plus d'informations à propos des intervalles de séparation des protéines. *Résultat :* Le tableau ***Gel card A*** et les options de la zone ***Antibodies for Membrane A*** sont activés.

<table>
<tr><th>Étape</th><th>Illustration de l'étape</th><th>Actions de l'opérateur</th></tr>
<tr>
<td>
</td>
<td>
</td>
<td>Saisir les informations sur l'échantillon et les commentaires dans le tableau Gel card A (en option).

Voir Section 3.6.1 Amersham WB molecular weight markers, en page 67 pour plus d'informations sur les marqueurs MW et le calcul automatique de la courbe d'étalonnage des masses moléculaires.

Astuce :
Le tableau de l'échantillon n'est pas verrouillé pendant l'électrophorèse. Par conséquent, il est possible de remplir le tableau pendant l'étape d'électrophorèse, après avoir démarré l'analyse, si vous avez besoin de démarrer rapidement une analyse.</td>
</tr>
</table>



Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
4		Saisir le nom/la description du ***Primary ab (against target)*** (en option) et sélectionner ***Labeled secondary ab*** approprié dans le tableau ***Gel card A***. Dans ce protocole, le Cy5 a été utilisé pour le prémarquage. Choisir un anticorps secondaire conjugué au Cy3. Répéter les étapes 3-4 pour la plaque de gel B, si elle fait partie de l'analyse. ***Astuce :*** *Vous pouvez imprimer le protocole et l'utiliser lors de la préparation de l'échantillon et du prémarquage. Pour imprimer le protocole cliquer sur l'icône* [icône] *à droite des onglets de la plaque de gel ou appuyer sur* ***Ctrl + P***.

5.4 Réaliser le prémarquage des échantillons

Introduction

Le prémarquage des échantillons est nécessaire pour la détection lors de analyses par électrophorèse. Il est également nécessaire pour les analyses de type Western lors de la détection des protéines totales sur une membrane.

Cette section décrit :

- prérequis pour le prémarquage
- matériels requis pour le prémarquage
- préparations antérieures au démarrage du prémarquage
- marquage des échantillons (protocole de prémarquage)

Dans cet exemple, le prémarquage d'échantillons cellulaires/tissulaires lysés à utiliser lors d'une analyse de type ***Western with total protein normalization*** est réalisé. Pour plus d'informations à propos du prémarquage, voir *Amersham WB system User Manual*.

Précautions d'emploi



AVERTISSEMENT

En cas de prémarquage d'échantillons de protéines :

- Toujours porter des gants, des vêtements et des lunettes de protection.
- Lire la Fiche de données de sécurité (SDS/MSDS) avant de procéder au prémarquage des échantillons.



MISE EN GARDE

Quand le prémarquage des protéines dans les échantillons a été réalisé, une forte odeur peut provenir des traces de sulfure de diméthyle (DMS) et de diméthylsulfoxyde (DMSO). Une ventilation locale par aspiration peut être nécessaire. Respecter les réglementations locales et les instructions pour une utilisation en toute sécurité.

Remarque : *Pour obtenir des efficacités comparables en matière de marquage, des paramètres importants comme le pH, le volume de réaction, la température et les sels des tampons ne doivent pas varier.*

Les efficacités en matière de marquage vont également varier d'une protéine à une autre.

Prérequis pour le prémarquage des échantillons à l'aide du protocole de prémarquage Western

Tampons de lyse compatibles

Les tampons de lyse courants à base de Tris, à pH de 7 à 9 avec divers détergents et sels sont compatibles avec le prémarquage des échantillons de cellules/tissus, par exemple :

- Tampon d'extraction des protéines de mammifères GE
- Tampon RIPA

pH de l'échantillon

Le pH de l'échantillon doit être compris entre 7 et 9.

Un pH optimal n'est pas crucial pour les lysats cellulaires et les extraits tissulaires, car une sensibilité élevée pour le signal des protéines totales n'est pas nécessaire. Le signal des protéines totales dans une analyse de type Western avec normalisation des protéines totales reflète la proportionnalité avec la quantité de protéines (il ne dépend pas d'une sensibilité élevée).

Solutions et matériels nécessaires

Les solutions et les matériels suivants sont nécessaires pour le prémarquage des protéines :

- Consommables pour le prémarquage : réactif coloré Cy5, tampon de marquage, tampon de chargement
- solution mère 1 M de DTT (dithiothréitol) (DTT et eau ultra pure) si la réduction de SDS-PAGE doit être réalisée
- Eau ultra-pure pour diluer le réactif coloré Cy5
- Tampon de lyse d'origine pour ajuster le volume de réaction (analyses de type Western uniquement)
- tubes pour microcentrifugation de 0,5 ml
- Bloc de chauffage

- Vortex
- Centrifugeuse

Préparations antérieures au démarrage du prémarquage

Étape	Action
1	• Sortir du congélateur un de chacun des flacons suivants (en quantité suffisante pour analyses deux plaques de gel) : - 1 flacon de Amersham WB Cy5 - 1 flacon de Amersham WB loading buffer • Décongeler complètement les composants de prémarquage. • Équilibrer le flacon de Cy5 à température ambiante avant de l'ouvrir pour éviter la condensation de l'humidité.
2	Centrifuger brièvement le liquide réactif coloré Cy5 à l'aide d'une centrifugeuse.
3	Régler la température du bloc de chauffage sur 95 °C.
4	Pour réduire SDS-PAGE, ajouter un agent réducteur au tampon de chargement : • Ajouter 29 µl de solution mère 1 M de DTT à 0,7 ml (un flacon) de tampon de chargement et passer au vortex pour mélanger.

Réaliser le prémarquage de l'échantillon (protocole de prémarquage Western)

Astuce : *Le protocole ci-dessous peut être augmenté.*

Étape	Action
1	Réaliser la réaction de marquage dans un tube pour microcentrifugation de 0,5 ml : • Ajouter 2-19 µl d'échantillon de lysat cellulaire ou d'extrait tissulaire (40 µg au maximum de protéines totales) et compléter jusqu'à un volume de 19 µl à l'aide du tampon de lyse de l'échantillon d'origine. • Ajouter 1 µl de réactif coloré Cy5 dilué au 01:10 dans de l'eau ultra pure. ***Remarque :*** *Le colorant dilué doit être fraîchement préparé et utilisé dans les 30 minutes. Il ne peut pas être congelé et réutilisé.* • Passer brièvement au vortex pour mélanger soigneusement.
2	Incuber à température ambiante pendant 30 minutes. ***Remarque :*** *Veiller à ce que la durée de marquage soit égale au volume pour tous les échantillons.* *Pour les échantillons sensibles à la température, incuber sur de la glace pendant 30 minutes.*
3	Ajouter 20 µl de tampon de chargement.
4	Chauffer les échantillons à 95 °C pendant 3 minutes.
5	Centrifuger les échantillons. Le volume total de l'échantillon est de 40 µl par réaction (le volume de chargement recommandé est de 20 µl). Procéder au chargement des échantillons, comme décrit dans *Préparations avant le démarrage de l'électrophorèse, en page 132*. Si l'analyse par électrophorèse doit être réalisée à un stade ultérieur, conserver les échantillons prémarqués à -20 °C.

5.5 Préparer le Amersham WB molecular weight markers

Introduction

Prendre un flacon de Amersham WB molecular weight markers (en quantité suffisante pour analyser deux plaques de gel) du congélateur et le décongeler complètement.

Analyses de type Western

Pour les analyses de type Western le Amersham WB molecular weight markers doit être dilué à 1:20 dans du tampon de chargement avant de le charger sur la plaque de gel. Avant l'utilisation, le tampon de chargement fourni doit être dilué avec de l'eau ultra-pure et une solution DTT ajoutée.

Étape	Action
1	Ajouter 29 µl de solution mère DTT 1 M au volume de 0,7 ml de tampon de chargement (une fiole). Centrifuger pour mélanger.
2	Diluer la solution DTT contenant le tampon de chargement avec un volume égal d'eau ultra-pure. Centrifuger pour mélanger.
3	Diluer les marqueurs de poids moléculaire 1:20 avec la préparation de tampon de chargement.

Remarque : *Les marqueurs de poids moléculaire peuvent être davantage dilués dans la préparation de tampon de marquage pour les échantillons à signal faible. Il est, toutefois, nécessaire de sélectionner l'option* ***Stop electrophoresis on time****.*

Analyses par électrophorèse

Lors des analyses par électrophorèse, il n'est en général pas nécessaire de diluer le Amersham WB molecular weight markers. Si nécessaire, diluer les marqueurs de poids moléculaire avec le tampon de chargement contenant une solution DTT (dilué avec un volume égal d'eau ultra-pure).

Répliques

Il est recommandé d'inclure deux pistes de marqueurs dans l'analyse pour obtenir les meilleurs résultats possibles dans l'étalonnage des protéines d'échantillonnage lors de l'étape d'évaluation.

5.6 Réaliser une électrophorèse des protéines

Introduction

Cette section décrit comment réaliser une électrophorèse des protéines avec :

- les préparations avant de commencer l'électrophorèse
- la réalisation d'un nettoyage du puits de l'échantillon
- le démarrage et la surveillance de l'électrophorèse et le balayage de la plaque de gel
- les procédures postérieures à l'électrophorèse et balayage de la plaque de gel

Dans cette section

Cette section comporte les sous-sections suivantes :

5.6.1 Avant l'électrophorèse

Introduction

Ce chapitre décrit la modalité de chargement des bandes tampon, des plaques de gel, de la préparation Amersham WB molecular weight markers et des échantillons pour les analyses par électrophorèse.

Préparations avant le démarrage de l'électrophorèse



AVERTISSEMENT

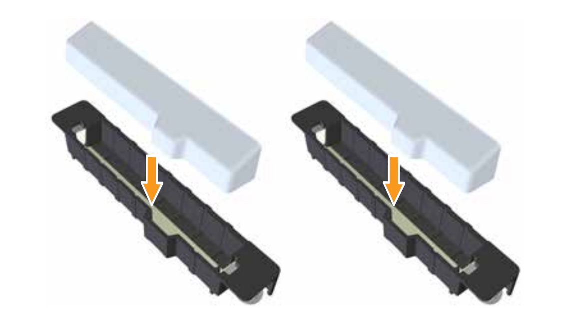
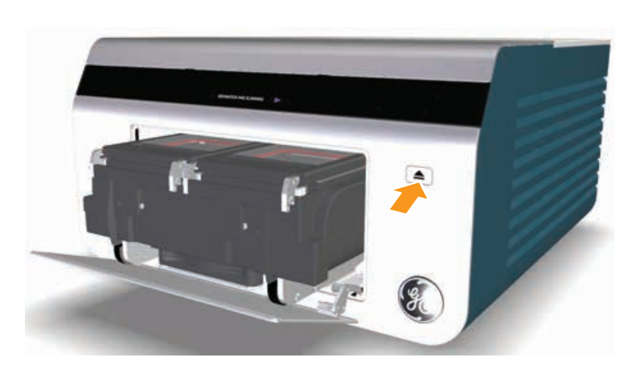
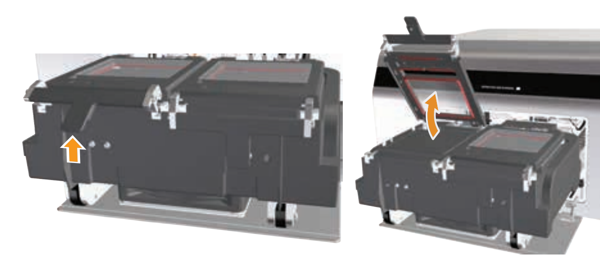
Explosion de la vitre. Ne pas faire fonctionner le système si la vitre du couvercle d'étanchéité de l'appareil Elpho & scan est rayée ou cassée. Mettre l'instrument hors tension, débrancher le cordon d'alimentation et contacter un technicien de maintenance agréé.

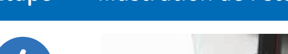
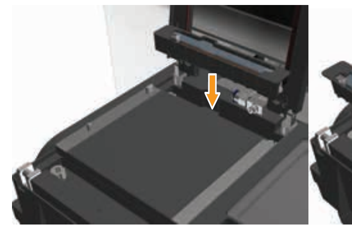
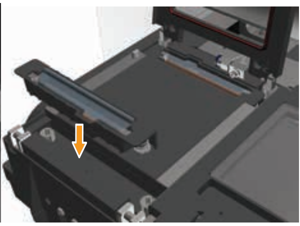
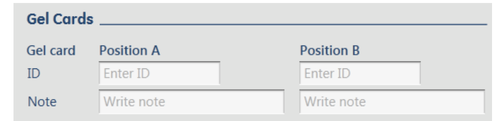


MISE EN GARDE

Parties mobiles. Veiller lors de l'ouverture/de la fermeture du chargeur à ce que vos doigts ou vos vêtements ne soient pas coincés quand le chargeur se déplace.

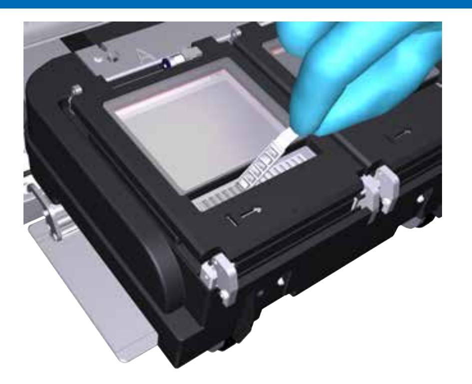
Ne jamais placer de bouteilles ou de flacons devant l'appareil Elpho & scan. Ils sont susceptibles de tomber quand le chargeur est ouvert.

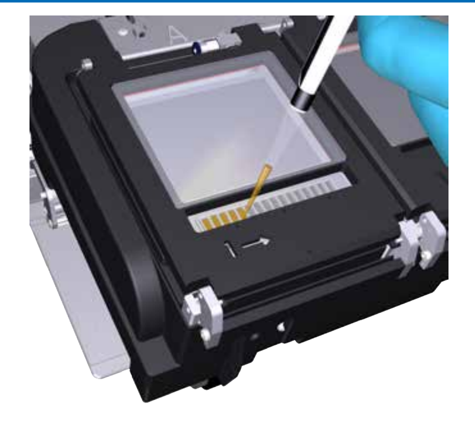
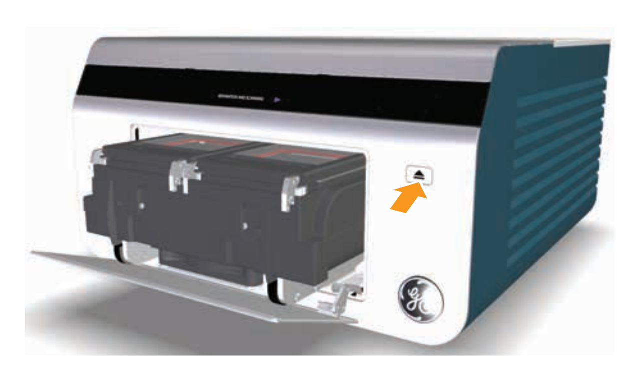
Étape	Illustration de l'étape	 Actions de l'opérateur
 1		Placer les bandelettes de tampon dans leurs supports en sortant deux bandelettes de leur conditionnement et en les plaçant directement dans leurs supports. ***Remarque :*** *Pour éviter la contamination des bandelettes de tampon, ne pas les toucher ou s'assurer d'utiliser des gants propres.*
 2		Unité Appuyer sur le bouton d'éjection de l'unité Elpho & scan. *Résultat :* Le chargeur est éjecté.
 3		Ouvrir le couvercle d'étanchéité à l'aide du fermoir.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
 4	 	Placer les supports de bandelettes de tampon dans les cavités du plateau des plaques dans le chargeur.
	 	• Sortir une plaque de gel de son conditionnement (avec la face avant orientée vers le haut). • *En option :* Placer le curseur dans le champ ***ID*** dans le logiciel à l'étape ***ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING*** du flux de travail du logiciel et balayer la balise matricielle de la plaque de gel (indiquée par un cercle orange) à l'aide du lecteur de balises matricielles. Sinon, entrer les cinq chiffres de l'ID (par ex., 00123).

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
6		• Tourner la plaque de gel de sorte que sa face arrière soit orientée vers le haut (les poignées bleues du gel, sans étiquettes, sont orientées vers le haut). • Saisir l'extrémité du film de protection au bas de la plaque de gel et le retirer avec précaution. • Saisir l'extrémité du film de protection en haut de la plaque de gel et le retirer avec précaution. En retirant les films de protection, le contact entre le gel et le tampon est établi lors du placement de la plaque de gel sur le plateau des plaques. Veiller à ne pas toucher les surfaces de gel exposées.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
		• Tourner le gel de sorte que sa face avant soit orientée vers le haut (par ex., le couvercle du puits de l'échantillon est orienté vers le haut). ***Remarque :*** *S'assurer que le plateau des plaques est complètement sec.* • Placer la plaque de gel sur le plateau des plaques en alignant les orifices du cadre de la plaque de gel sur les goupilles de guidage marquées de cercles orange. ***Remarque :*** *Prendre soin de ne pas rayer le plateau des plaques avec un objet tranchant.*

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
 8		• Fermer le couvercle d'étanchéité. • Saisir l'extrémité de la couverture du puits de l'échantillon et la retirer avec précaution. ***Astuce :*** *Changer de prise pendant le retrait de la couverture du puits de l'échantillon afin de pouvoir la tenir aussi près que possible des puits.* ***Remarque :*** *Si la couverture du puits de l'échantillon se brise : Laisser la plaque de gel dans le chargeur avec le couvercle d'étanchéité fermé. Utiliser par exemple des pinces pour retirer le reste de la couverture du puits.*

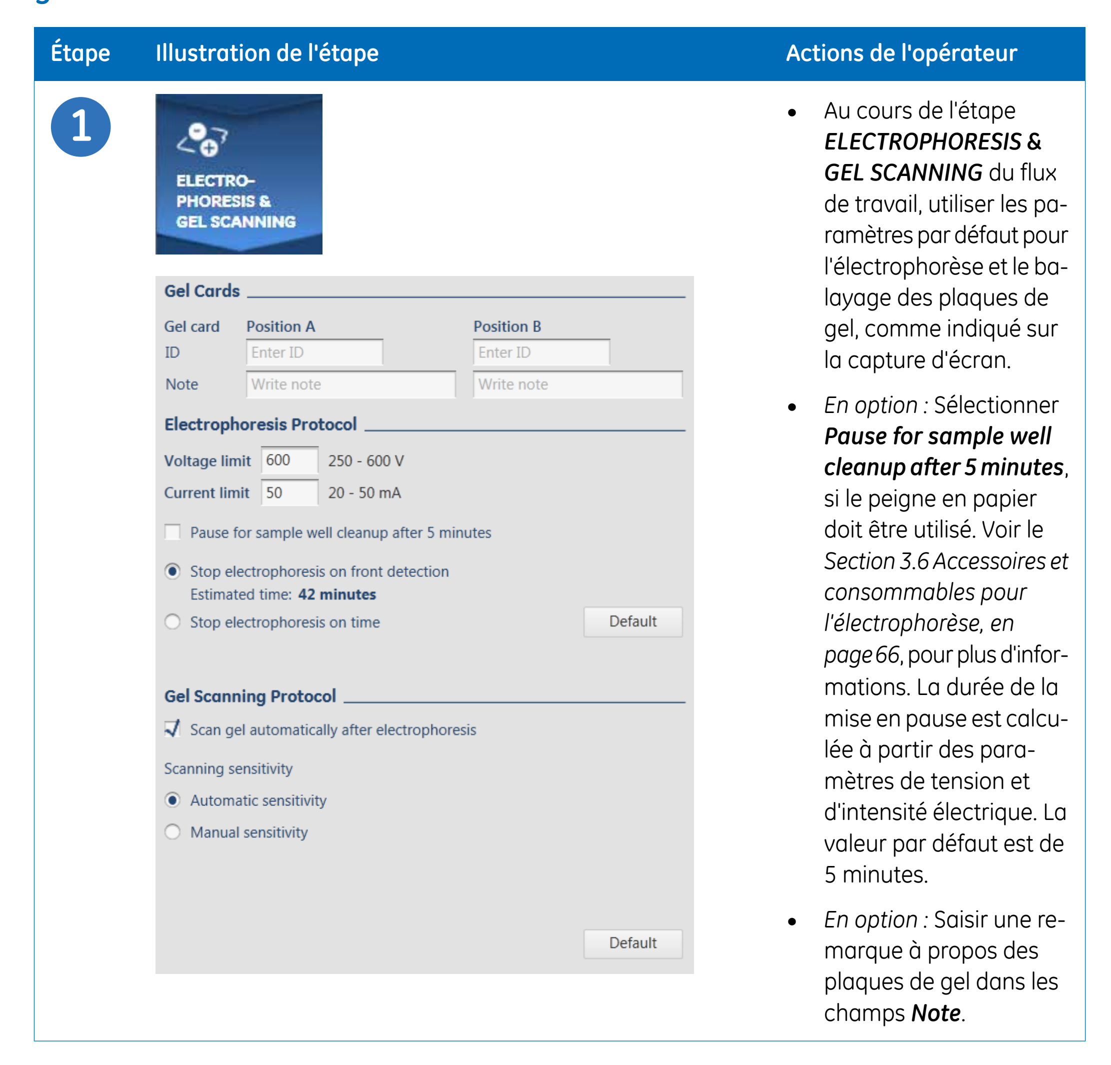
Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
		Charger les échantillons, le tampon de chargement et/ou le marqueurs des masse moléculaire dans les puits (en général 20 µl/puits) comme configuré sur l'écran ***EXPERIMENT & SAMPLES*** du logiciel. ***Remarque :*** *Ne jamais ouvrir le couvercle après que les échantillons aient été chargés.* ***Remarque :*** *Tous les puits doivent être chargés avec un échantillon, du tampon de chargement (dilué avec un volume égal d'eau ultra-pure) ou marqueurs des masse moléculaire. Il est recommandé de charger du tampon de chargement dans les puits 1 et 16 et du marqueurs des masse moléculaire dans les puits 2 et 15.*
		Unité Quand tous les échantillons ont été chargés, appuyer sur le bouton Éjecter. *Résultat :* Le chargeur est inséré dans l'unité Elpho & scan.

5.6.2 Exécuter une électrophorèse

Introduction

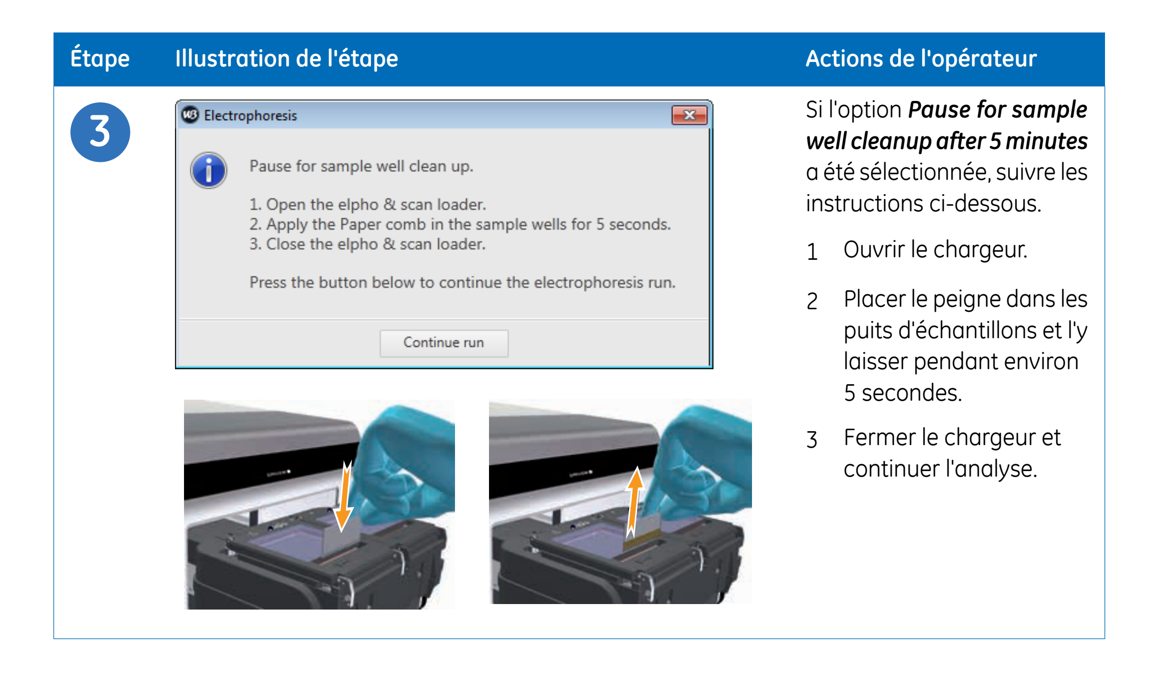
Cette section décrit comment démarrer et surveiller une électrophorèse.

Démarrer et surveiller une électrophorèse et le balayage du gel



Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		• Au cours de l'étape ***ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING*** du flux de travail, utiliser les paramètres par défaut pour l'électrophorèse et le balayage des plaques de gel, comme indiqué sur la capture d'écran. • *En option :* Sélectionner ***Pause for sample well cleanup after 5 minutes***, si le peigne en papier doit être utilisé. Voir le *Section 3.6 Accessoires et consommables pour l'électrophorèse, en page 66*, pour plus d'informations. La durée de la mise en pause est calculée à partir des paramètres de tension et d'intensité électrique. La valeur par défaut est de 5 minutes. • *En option :* Saisir une remarque à propos des plaques de gel dans les champs ***Note***.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
2	Electrophoresis Start Ready for Electrophoresis Electrophoresis Start Electrophoresis in progress Elapsed time 37 s Voltage Current Power Temp Gel A 50 mA Gel B 50 mA Current (mA) 60 40 20 0 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1 Time (Minutes) Gel B Gel A	Cliquer sur ***Start*** dans la zone ***Electrophoresis*** . *Résultat :* L'exécution de l'électrophorèse démarre. La progression de l'analyse est affichée sous forme de courbes indiquant l'intensité, la tension et l'effet de la température. Le temps d'analyse écoulé est également affiché. ***Astuce :*** *Pendant l'électrophorèse, du temps est disponible pour préparer les tampons et les solutions pour les étapes du transfert de type Western. Voir Section 5.7.1 Préparer et connecter les solutions de transfert, en page 145 et Section 5.8.1 Préparer et connecter les solutions de sondage et d'anticorps, en page 169 pour plus d'informations.*

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
3		Si l'option ***Pause for sample well cleanup after 5 minutes*** a été sélectionnée, suivre les instructions ci-dessous. 1 Ouvrir le chargeur. 2 Placer le peigne dans les puits d'échantillons et l'y laisser pendant environ 5 secondes. 3 Fermer le chargeur et continuer l'analyse.

5.6.3 Procédures ultérieures à l'électrophorèse et balayage de la plaque de gel

Introduction

Cette section décrit comment retirer la plaque de gel et nettoyer l'unité Elpho & scan après l'électrophorèse.

Retirer les plaques de gel



AVERTISSEMENT

Après l'électrophorèse ou après le transfert (quand le sandwich de transfert a été ouvert et que la plaque PVDF a été placée dans le compartiment de sondage), mettre le gel au rebut en toute sécurité. Lire la Fiche de données de sécurité (SDS/MSDS) de la plaque de gel dans laquelle figurent les instructions concernant le gel et sa mise au rebut.

Remarque : *L'exécution du transfert doit être démarrée dans l'heure qui suit la fin de l'électrophorèse.*

Étape	Action
1	Quand l'électrophorèse est prête et que le voyant blanc Prêt est allumé sur le panneau de l'instrument, appuyer sur le bouton d'éjection de l'unité Elpho & scan. *Résultat :* Le chargeur est éjecté.
2	Ouvrir le couvercle d'étanchéité à l'aide du fermoir.
3	Retirer la plaque de gel et la placer sur la paillasse, à l'envers.
4	Procéder au nettoyage de l'*Nettoyer l'unité Elpho & scan, en page 143*. ***Remarque :*** *Il est recommandé de nettoyer l'unité Elpho & scan après chaque analyse. Cependant si peu de temps est imparti, procéder au transfert et nettoyer l'unité plus tard au cours de l'analyse.*

Nettoyer l'unité Elpho & scan

Étape	Action
1	Unité Retirer les supports des bandelettes de tampon du chargeur et jeter les bandelettes de tampon.
2	Essuyer toute trace de liquide sur le plateau des plaques à l'aide d'un tissu non pelucheux, imbibé, si nécessaire, d'éthanol à 50 %.
3	Essuyer toute trace de liquide et de salissure de la vitre de protection à l'aide d'un tissu non pelucheux, imbibé, si nécessaire, d'éthanol à 50 % ***Remarque :*** *Il est important de maintenir la vitre de protection en bon état de propreté afin d'obtenir un bon résultat lors du balayage des plaques de gel et dePVDF* .
4	Fermer le couvercle d'étanchéité et appuyer sur le bouton d'éjection de l'unité Elpho & scan. *Résultat :* Le chargeur est inséré.
5	Nettoyer le support des bandelettes de tampon avec de l'eau du robinet pour éliminer les sels et le tampon. Laisser le support des bandelettes de tampon sécher à l'air, à l'envers.

Passer au transfert

Exécuter l'une des actions suivantes :

- Si les solutions de transfert ont été préparées et connectées à l'unité Western, suivre les instructions de *Section 5.7.2 Préparer le sandwich de transfert, en page 147*.

  sinon

- Suivre les instructions de *Section 5.7.1 Préparer et connecter les solutions de transfert, en page 145*.

5.7 Réaliser le transfert

Introduction

Cette section décrit comment préparer le sandwich de transfert, comment démarrer et surveiller l'exécution du transfert, ainsi que les procédures à réaliser après l'exécution du transfert.

Dans cette section

Cette section comporte les sous-sections suivantes :

5.7.1 Préparer et connecter les solutions de transfert

Introduction

Cette section décrit la façon de préparer et de connecter les tampons et les solutions pour le transfert.

Les solutions de transfert peuvent être préparées pendant l'exécution du transfert et doivent être connectées avant le démarrage du transfert.

Formules des solutions de transfert



AVERTISSEMENT

Placer le Amersham WB analyzer dans une pièce disposant d'une ventilation par aspiration si du méthanol ou d'autres produits chimiques nécessitant une ventilation sont utilisés.



MISE EN GARDE

Risque d'incendie. Ne pas utiliser de solutions tampon de transfert comportant plus de 40 % d'éthanol ou plus de 40 % de méthanol. Il est recommandé d'utiliser uniquement 20 % d'éthanol dans les tampons de transfert.

Solution	Formules	Quantité/analyse
Tampon de transfert	Tris 25 mM, glycine 192 mM, éthanol à 20 % pH 8,3 Il est possible d'utiliser du méthanol plutôt que de l'éthanol dans le tampon de transfert. ***Remarque :*** *Certains éthanols ont des propriétés auto fluorescentes qui conduisant à un bruit de fond élevé de la membrane. S'assurer que l'éthanol utilisé pendant le transfert n'est pas auto fluorescent.*	1000 ml

Solution	Formules	Quantité/analyse
Eau ultra pure (utilisée pour le nettoyage)	Eau ultra pure	1000 ml

Connecter la tubulure au tampon de transfert et à l'eau ultra pure sur le porte-flacons



MISE EN GARDE

Pour éviter les éclaboussures de liquides dangereux, utiliser des filtres d'entrée lourds reliés aux tubulures des flacons.

Voir *Section 3.8 Autres accessoires, en page 85* pour la description des filtres d'admission et des porte-tubes. Voir *Attacher les supports de tubulure, en page 104* pour des indications sur la fixation des accessoires.

Avant de démarrer le transfert, connecter la tubulure au tampon de transfert et à l'eau ultra pure (utilisée pour le nettoyage du réservoir de transfert) comme suit :

Étape	Action
1	Depuis la tour de tubulure de gauche, placer la tubulure marquée **T Buffer** dans un flacon de 1 000 ml de tampon de transfert
2	Placer la tubulure marquée **T Water** dans un flacon de 1 000 ml d'eau ultra pure.

5.7.2 Préparer le sandwich de transfert

Matériels requis

Les consommables et accessoires suivants sont nécessaires lors de la préparation d'un sandwich de transfert :

- 1 support de transfert
- 1 plaque de gel qui a été analysée
- 1 plaque PVDF
- 2 éponges
- 2 papiers de transfert
- 1 récipient avec du tampon de transfert pour mouiller les papiers de transfert
- 1 récipient avec au moins 96 % d'éthanol pour préalablement mouiller la plaque PVDF
- 1 récipient avec du tampon de transfert pour équilibrer la plaque PVDF

Remarque : *Certains éthanols ont des propriétés auto fluorescentes qui conduisant à un bruit de fond élevé de la membrane. S'assurer que l'éthanol utilisé pendant le transfert n'est pas auto fluorescent.*

Précautions d'emploi

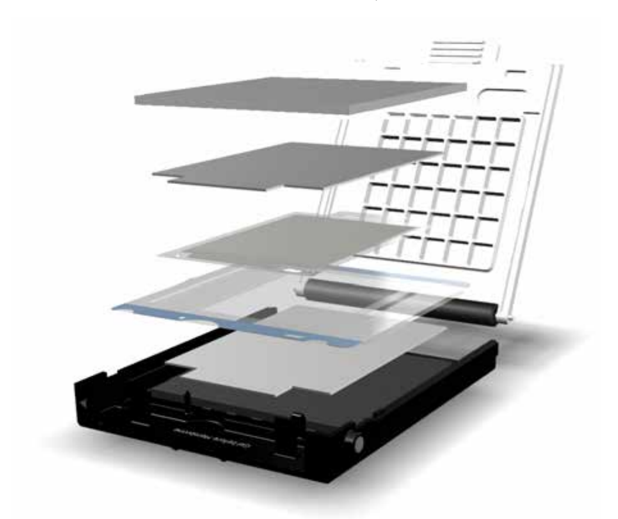


AVERTISSEMENT

Toujours porter des gants, des vêtements et des lunettes de protection pendant la manipulation des plaques de gel, des plaques PVDF et des autres consommables fournis avec le Amersham WB system.

Illustration de présentation de l'ensemble sandwich de transfert

L'illustration ci-dessous montre une présentation de l'ensemble sandwich de transfert.

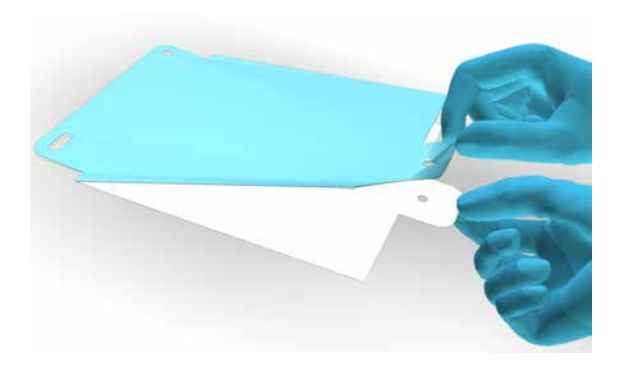


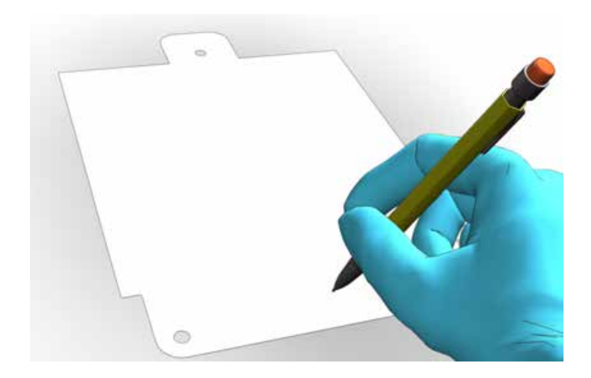
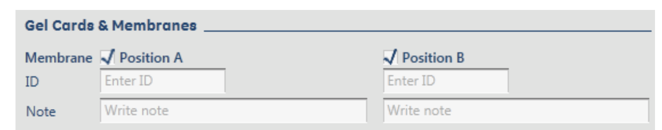
Le tableau ci-dessous décrit brièvement le processus de préparation d'un sandwich de transfert :

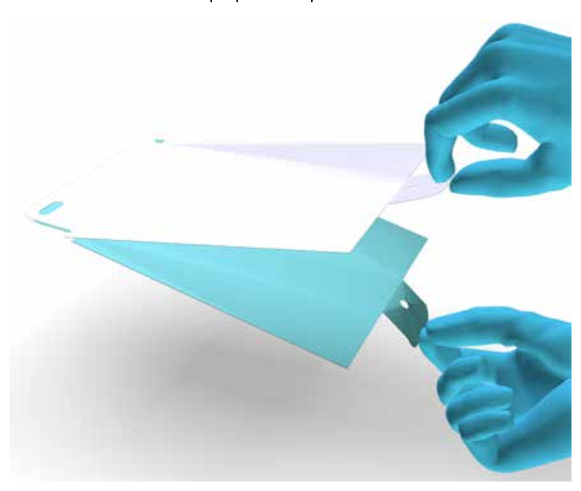
Stade	Description
1	La plaque PVDF est préalablement mouillée d'éthanol puis équilibrée dans le tampon de transfert.
2	Une éponge est placée sur la partie inférieure du support de transfert (couvercle noir).
3	Un papier de transfert est préalablement mouillé de tampon de transfert puis placé dans le support de transfert.
4	Le cadre avec le gel et les protéines séparées est retiré de son support et placé dans le support de transfert.
5	La plaque PVDF est placée dans le support de transfert.
6	Le deuxième papier de transfert est mouillé de tampon de transfert puis placé dans le support de transfert.
7	Les bulles d'air sont éliminées à l'aide du rouleau intégré dans le support de transfert.
8	Une deuxième éponge est placée sur le papier de transfert.
9	Le support de transfert est fermé.

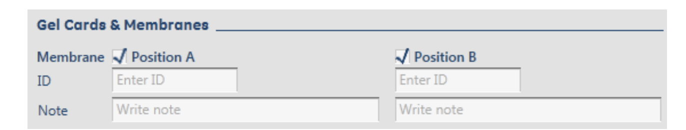
Préparer la plaque PVDF

Plaque Les instructions ci-dessous décrivent la préparation d'un sandwich de transfert :

Étape	Action
1	Retirer un emballage unique de plaque PVDF du carton PVDF.  ***Remarque :*** *Conserver l'emballage pour l'identification de la plaque PVDF individuelle et pour la stocker ultérieurement.*
2	Retirer la plaque PVDF de l'emballage et retirer le premier papier de protection de couleur bleue. 

Étape	Action
3	*En option :* • Avant de retirer le deuxième papier de protection, effectuer une annotation (à l'aide d'un crayon) sur la surface de la plaque PVDF. ***Astuce :*** *La surface permettant l'écriture peut être utilisée pour saisir la position (A or B) où la plaque PVDF est utilisée.*  • Sélectionner l'étape du flux de travail ***TRANSFER*** dans le logiciel. Placer le curseur dans le champ ***Note*** approprié et taper le texte. 

Étape	Action
4	Retirer le deuxième papier de protection de couleur bleue.  ***Remarque :*** *Ne pas toucher la surface de transfert (marquée par un carré rouge) avec vos doigts. Maintenir la plaque PVDF avec les poignées.* 

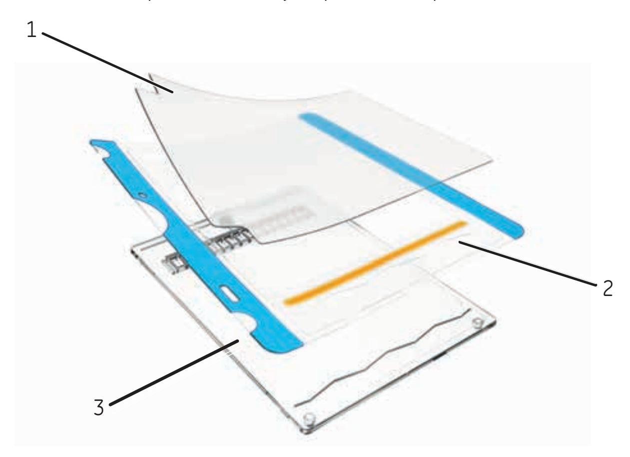
Étape	Action
5	*En option :* Saisir les informations de la plaque PVDF dans le logiciel. • Sélectionner l'étape du flux de travail ***TRANSFER*** dans le logiciel. • Dans la zone ***Gel Cards & Membranes***, placer le curseur dans le champ ***ID*** approprié. • Saisir manuellement le numéro d'identification ou balayer la balise matricielle sur l'étiquette de l'emballage unique de la plaque PVDF.  • Pour saisir une remarque à propos de la membrane, placer le curseur dans le champ ***Note*** et saisir la remarque. ***Astuce :*** *Saisir le numéro du lot. Il n'est pas inclus dans la matrice de données mais il est disponible sur l'étiquette de la boîte des plaques PVDF.* 
6	Attraper la poignée de la plaque PVDF et mouiller préalablement la plaque d'éthanol en la laissant dans le récipient plein d'éthanol pendant environ 20 secondes.
7	Transférer la plaque PVDF dans le récipient du tampon de transfert de la plaque PVDF et la laisser s'équilibrer pendant au moins 5 minutes. ***Remarque :*** *S'assurer que la plaque PVDF est recouverte de tampon de transfert pendant cette période.*

Commencer à construire le sandwich de transfert

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		• Placer le support de transfert avec le côté noir orienté vers le bas. • Ouvrir le support de transfert en appuyant sur les fermoirs et en soulevant le couvercle blanc.
2		• Pousser sur le couvercle jusqu'à ce que les goupilles du rouleau atteignent les deux cavités (marquées de cercles orange dans l'image). • Retirer le couvercle blanc en le soulevant par les des deux cavités.
3		Placer la première éponge sur le couvercle noir.
4		Mouiller préalablement un papier de transfert de tampon de transfert et le placer sur l'éponge sur le couvercle noir (la poignée du papier de transfert doit être positionnée entre les goupilles de guidage).

Illustration de présentation du démontage de la plaque de gel

L'illustration ci-dessous montre une vue éclatée des pièces de la plaque de gel qui sont démontées après une analyse par électrophorèse.



Le tableau ci-dessous décrit brièvement les pièces de la plaque de gel qui sont démontées.

Stade	Description
1	Film de protection. Ce film est le premier à être retiré.
2	Cadre du gel Les bords du cadre du gel sont désolidarisés préalablement du support du cadre (3 dans l'illustration) puis retirés avec précautions.
3	Le support du cadre reste sur la paillasse.

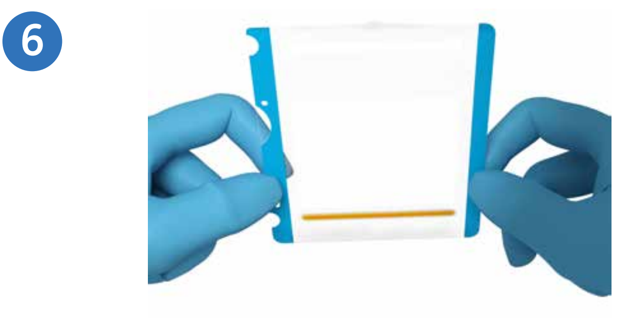
Désolidariser le cadre du gel de son support et le placer dans le support de transfert

Remarque : *Ne pas toucher la zone du gel (marquée d'une croix rouge) lors de la désolidarisation du cadre du gel.*



Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		Tenir le cadre du gel de façon stable. Retirer le film de protection en prenant l'extrémité indiquée par une flèche orange et en la tirant en **diagonale** dans la direction de la flèche.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
2		Placer la plaque de gel sur la paillasse (le gel exposé orienté vers le haut) comme illustré dans l'image.
3		Saisir les coins du cadre du gel inférieur et désolidariser le cadre du gel entre les coins inférieurs aussi loin que l'indiquent la ligne pointillée et les flèches. ***Remarque :*** *En assouplissant le gel, continuer à pousser la plaque de gel sur le banc à l'aide de vos doigts.*
4		Saisir les coins du cadre du gel supérieur et désolidariser le cadre du gel aussi loin que l'indique la ligne pointillée. S'assurer que le cadre du gel est complètement désolidarisé du bouchon en caoutchouc blanc (indiqué par la flèche orange supérieure).

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
5	 	Continuer à désolidariser avec soin le cadre du gel des bords de la plaque de gel, en direction de l'extrémité inférieure, jusqu'à ce que le cadre du gel soit complètement désolidarisé. ***Remarque :*** *En assouplissant le gel, continuer à pousser la plaque de gel sur le banc à l'aide de vos doigts.* ***Remarque :*** *Veiller à ne pas toucher le gel.*
6		Saisir les poignées du cadre du gel et soulever le gel avec précautions depuis le support du cadre.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
7		Placer le cadre du gel sur le papier de transfert en faisant correspondre les orifices de guidage du cadre du gel avec les goupilles de guidage et en roulant vers le bas le gel sur le papier de transfert.

Placer la plaque PVDF et terminer la construction du sandwich de transfert

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		Attraper les deux poignées de la plaque PVDF avec vos doigts ou à l'aide d'une pince plate. Retirer la plaque du plateau de tampon de transfert. ***Remarque :*** *Ne pas toucher la zone d'absorption de la plaque PVDF (marquée par un carré rouge dans l'image).*
2		Placer la plaque PVDF sur la plaque de gel en faisant correspondre les orifices de guidage de la plaque PVDF avec les goupilles de guidage et en roulant la plaque PVDF vers le bas sur le gel. ***Remarque :*** *Ne pas ajuster la position de la plaque PVDF une fois qu'elle est placée sur la plaque de gel.*
3		Mouiller préalablement un papier de transfert dans le tampon de transfert et le placer sur la plaque PVDF (la poignée du papier de transfert doit être positionnée entre les goupilles de guidage).

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
4		Retirer toutes les bulles d'air comme suit : • Prendre le couvercle blanc et l'insérer dans les deux cavités (image de gauche). • Saisir les poignées du papier de transfert avec votre main gauche et faire glisser le rouleau dans les chemins de guidage du support vers l'autre côté du support de transfert à l'aide de votre main droite.
5		Placer la deuxième éponge sur le papier de transfert.
6		Fermer le support de transfert en appuyant sur le couvercle jusqu'à ce que les fermoirs se verrouillent en place.

5.7.3 Exécuter le transfert

Introduction

Cette section décrit :

- comment charger le support de transfert dans le réservoir de transfert
- comment démarrer et surveiller le transfert
- les procédures a exécuter après le transfert

Avant le transfert

S'assurer que le tampon de transfert et l'eau ultra pure pour l'exécution du transfert ont été connectés. Voir *Connecter la tubulure au tampon de transfert et à l'eau ultra pure sur le porte-flacons, en page 146* pour plus d'informations.

Charger les sandwiches de transfert

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		Ouvrir le couvercle du réservoir de transfert.
2		Insérer les supports de transfert dans le réservoir. S'assurer que la flèche blanche pointe vers la flèche de l'instrument (vers vous).
3		Fermer le couvercle du réservoir de transfert.

Démarrer et surveiller le transfert



MISE EN GARDE

Risque de choc électrique. Toujours arrêter le transfert en cours avant d'essuyer le liquide sur l'instrument ou la paillasse.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1	TRANSFER	Dans l'écran principal du logiciel, cliquer sur l'étape du flux de travail ***TRANSFER***.
2	**Gel Cards & Membranes** Membrane ✓ Position A ✓ Position B ID Enter ID Enter ID Note Write note Write note Gel card ID Note **Transfer Protocol** Duration 30 15 - 180 minutes Voltage limit 100 10 - 100 V Default **Solutions & Volumes** Transfer buffer Cleaning Description Tris-Glycine, 20% Ethanol Water Total volume 1000 ml 1000 ml	Utiliser les paramètres par défaut pour le ***Transfer Protocol*** comme indiqué dans la capture d'écran.

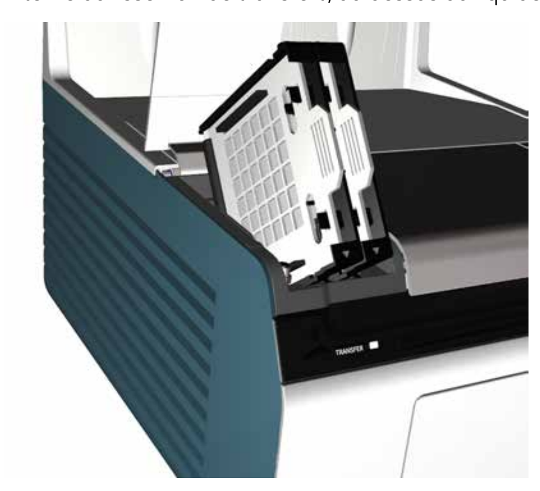
Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
3	Transfer Start Ready for Transfer	Cliquer sur ***Start*** dans la zone ***Transfer***. ***Remarque :*** *Pendant l'exécution du transfert, il est recommandé de préparer et de connecter les solutions utilisées au cours de l'étape de sondage.* *Voir Section 5.8.1 Préparer et connecter les solutions de sondage et d'anticorps, en page 169 pour plus d'informations.*

5.7.4 Procédures après le transfert

Introduction

Cette section décrit les procédures de nettoyage à réaliser après le transfert

Retirer le(s) support(s) de transfert

Étape	Action
1	Ouvrir le couvercle du réservoir de transfert.
2	Retirer les supports de transfert Les tenir en diagonale par la partie avant interne du réservoir de transfert, au dessus du liquide.  ***Remarque :*** *Pour éviter le séchage des membranes, ne pas ouvrir les supports de transfert au cours de cette étape.*

Nettoyer le circuit de transfert

Remarque : *Avant de procéder au nettoyage, retirer le support de transfert.*

Étape	Action
1	Quand le transfert est terminé, la boîte de dialogue ***Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path*** s'ouvre. ***Remarque :*** *Il est recommandé de nettoyer le circuit de transfert après une analyse.* *Si vous choisissez de ne pas effectuer le nettoyage du circuit de transfert, appuyer sur **Cancel** et passer au Passer au sondage, en page 167. Cependant, il faudra nettoyer le circuit de transfert à un stade ultérieur de l'analyse. Le nettoyage peut être réalisé en sélectionnant **Control:Clean Transfer flow path** à partir de la barre de menu.* *Si le nettoyage n'a pas été effectué, le circuit de transfert doit être vidé manuellement, en sélectionnant **Empty Transfer tank** à partir du **Control** menu.*
2	Déplacer la tubulure **T Buffer** vers le flacon d'eau contenant 1000 ml d'eau ultra pure (avec la tubulure **T Water**).
3	Cliquer sur ***Start clean*** dans la boîte de dialogue ***Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path***. Le nettoyage démarre et dure environ 9 minutes. ***Remarque :*** *Le sondage peut démarrer pendant le nettoyage du circuit de transfert, voir Passer au sondage, en page 167.*
4	Jeter la solution dans le flacon d'eau et placer la tubulure dans un flacon vide.
5	Essuyer la partie supérieure de l'intérieur du réservoir de transfert avec un tissu non pelucheux.
6	Retirer toutes les particules visibles restantes, les fibres et les morceaux de gel avec des pinces.

Nettoyer le support de transfert



AVERTISSEMENT

Après l'électrophorèse ou après le transfert (quand le sandwich de transfert a été ouvert et que la plaque PVDF a été placée dans le compartiment de sondage), mettre le gel au rebut en toute sécurité. Lire la Fiche de données de sécurité (SDS/MSDS) de la plaque de gel dans laquelle figurent les instructions concernant le gel et sa mise au rebut.

Remarque : *Réaliser cette étape quand le sandwich de transfert a été ouvert et que la plaque PVDF a été placée dans la chambre de sondage.*

Étape	Action
1	Retirer le gel du support de transfert. Éliminer le gel selon les instructions des fiches de données de sécurité SDS/MSDS et de la réglementation locale en matière de gestion des déchets.
2	Retirer et jeter les éponges et les papiers de transfert.
3	Nettoyer les différentes parties du support de transfert à l'eau courante.
4	Laisser le support de transfert sécher à l'air.

Passer au sondage

Exécuter l'une des actions suivantes :

- Si les solutions de sondage et les solutions d'anticorps ont été préparées et connectées à l'unité Western, procéder comme indiqué par les instructions de *Section 5.8.2 Exécuter le sondage, en page 173*

  sinon

- Procéder comme indiqué par les instructions de *Section 5.8.1 Préparer et connecter les solutions de sondage et d'anticorps, en page 169*

5.8 Réaliser le sondage et le séchage

Introduction

Cette section décrit comment procéder au sondage et au séchage.

Dans cette section

Cette section comporte les sous-sections suivantes :

5.8.1 Préparer et connecter les solutions de sondage et d'anticorps

Introduction

Cette section décrit la façon de préparer et de connecter les tampons et les solutions pour l'exécution du sondage.

Les solutions de sondage et les solutions d'anticorps peuvent être préparées pendant l'exécution du transfert et doivent être connectées avant le démarrage de l'exécution du sondage.

Formules pour solutions de sondage et solutions d'anticorps

Solution	Formules	Quantité/analyse
Solution de blocage	Le système est compatible avec la plupart des solutions de blocage, par exemple l'agent ECL PRIME à 2 % dans le PBS-T (Tween™-20 à 0,1 % dans 1×PBS) ou l'albumine sérique bovine à 5 % dans le PBS. Utiliser des solutions de blocage ayant une faible auto fluorescence, voir des recommandations dans le manuel *Western Blotting – Principles and Methods*.	70 ml
Tampon de lavage	PBS-T (Tween-20 à 0,1 % dans du 1×PBS)	560 ml
Tampon de lavage final	PBS pH 7,4	290 ml
Solution d'anticorps	Anticorps dans du PBS-T (Tween-20 à 0,1 % dans du 1×PBS). Voir Amersham WB system User Manual pour savoir comment déterminer les concentrations optimales en anticorps.	5 à 12 ml
Eau ultra pure (utilisée pour les rinçages entre les étapes de sondage et le nettoyage du circuit de sondage)	Eau ultra pure	760 ml

Connecter la tubulure aux solutions de sondage sur le porte-flacons



MISE EN GARDE

Pour éviter les éclaboussures de liquides dangereux, utiliser des filtres d'entrée lourds reliés aux tubulures des flacons.

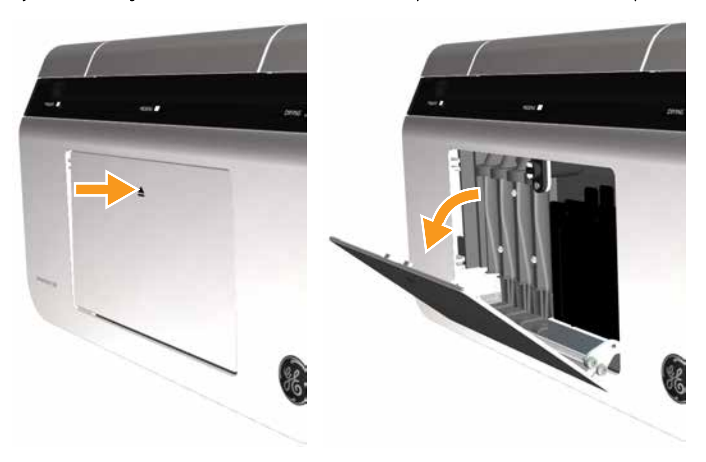
Voir *Section 3.8 Autres accessoires, en page 85* pour la description des filtres d'admission et des porte-tubes. Voir *Attacher les supports de tubulure, en page 104* pour des indications sur la fixation des accessoires.

Avant de démarrer le sondage, connecter la tubulure depuis les tours de tubulure du milieu et de droite vers les solutions utilisées pour l'exécution du sondage, comme suit :

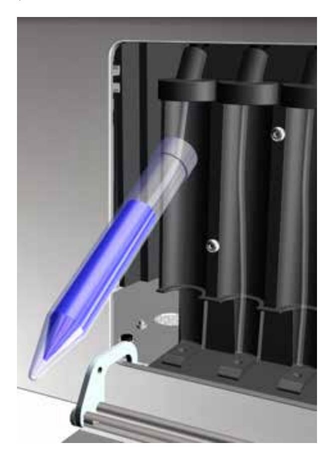
Étape	Action
1	Depuis la tour de tubulure du milieu, placer la tubulure marquée : • **P Water** dans un flacon de 1000 ml d'eau ultra pure • **P Block** dans un flacon de 100 ml de solution de blocage
2	Depuis la tour de tubulure de droite, placer la tubulure marquée : • **P Wash** dans un flacon de 1 000 ml de solution de lavage (PBS-T) • **P Final Wash** dans un flacon de 500 ml de solution de lavage final (PBS)
3	Avant de démarrer le sondage, connecter les tubes de la solution d'anticorps dans le compartiment des anticorps (voir ci-dessous pour plus d'informations).

Connecter les tubes de la solution d'anticorps

Remarque : *Les solutions d'anticorps doivent être préparées et connectées à proximité du démarrage du sondage.*

Étape	Action
1	Ouvrir le compartiment des anticorps de l'unité Western en appuyant sur le symbole d'éjection du couvercle du compartiment des anticorps. 

Étape	Action
2	Insérer chaque tube de solution d'anticorps dans la position appropriée, en plaçant la tubulure dans le tube et en pinçant le tube en position.



Le tableau ci-dessous décrit quels anticorps doivent être placés dans quelles positions des tubes d'anticorps dans le compartiment des anticorps.

Position	Description
A PRIMARY	Position devant être utilisée pour les anticorps primaires dirigés vers la membrane en position A dans la chambre de sondage.
A SECONDARY	Position devant être utilisée pour les anticorps secondaires dirigés vers la membrane en position A dans la chambre de sondage.
B PRIMARY	Position devant être utilisée pour les anticorps primaires dirigés vers la membrane en position B dans la chambre de sondage.
B SECONDARY	Position devant être utilisée pour les anticorps secondaires dirigés vers la membrane en position B dans la chambre de sondage.

Étape	Action
3	Fermer le couvercle du compartiment des anticorps.

Remarque : *Pour chaque membrane, il y a un tube d'anticorps pour les anticorps primaires et un tube pour les anticorps secondaires. Cela concerne, par exemple, la sélection de deux anticorps principaux pour le marquage de la membrane dans* ***Position A****, mélangés dans le même tube d'anticorps et mis en place* ***A PRIMARY****.*

5.8.2 Exécuter le sondage

Introduction

Cette section décrit comment :

- placer les plaques PVDF dans les chambres de sondage
- démarrer et surveiller le sondage

Précautions d'emploi



AVERTISSEMENT

Après l'électrophorèse ou après le transfert (quand le sandwich de transfert a été ouvert et que la plaque PVDF a été placée dans le compartiment de sondage), mettre le gel au rebut en toute sécurité. Lire la Fiche de données de sécurité (SDS/MSDS) de la plaque de gel dans laquelle figurent les instructions concernant le gel et sa mise au rebut.



MISE EN GARDE

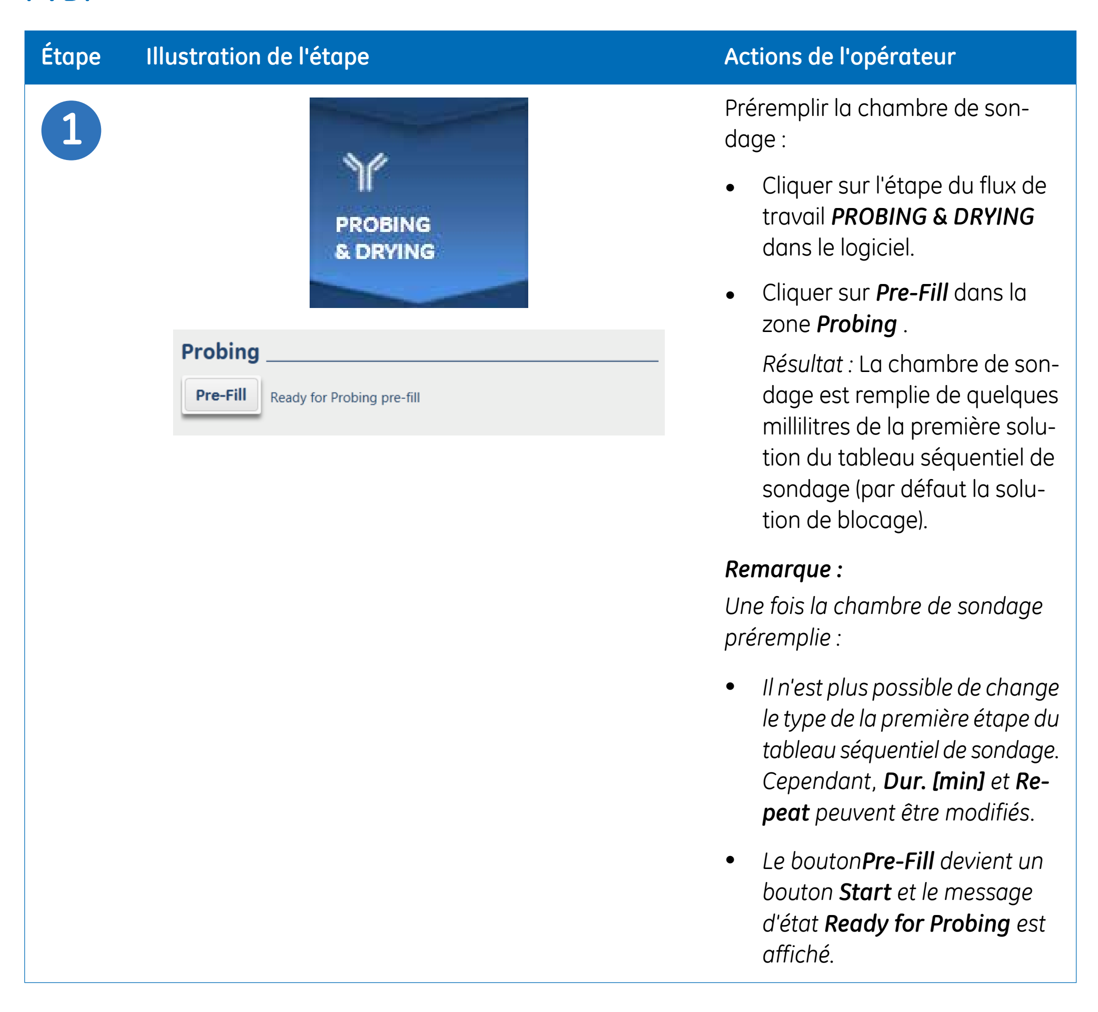
Risque de pincement. Ne pas toucher la chambre de sondage mobile pendant une analyse.

Avant le sondage

S'assurer que les tampons, l'eau ultra pure, les solutions d'anticorps, les solutions de blocage et de lavage sont connectés avant de démarrer le sondage.

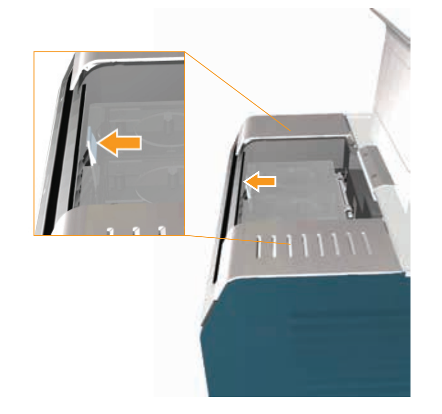
Remarque : *L'eau ultra pure doit toujours être connectée car elle est utilisée pour le rinçage entre les étapes de sondage. La solution de lavage est utilisée pour le rinçage entre les anticorps principaux en place* ***A*** *et* ***B****.*

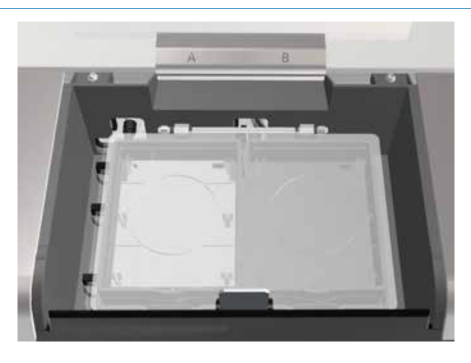
Préremplir la chambre de sondage et charger les plaques PVDF



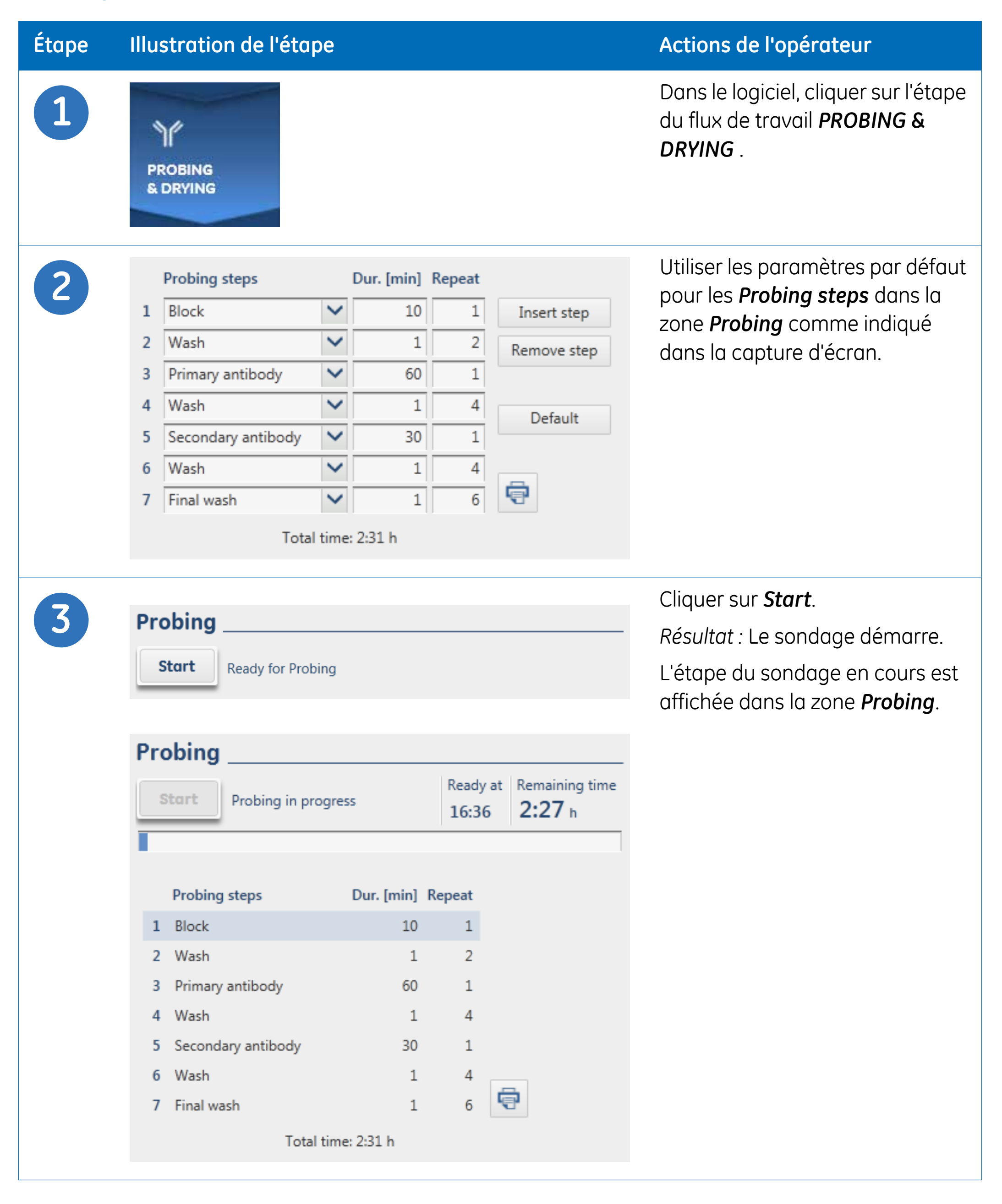
Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		Préremplir la chambre de sondage : • Cliquer sur l'étape du flux de travail ***PROBING & DRYING*** dans le logiciel. • Cliquer sur **Pre-Fill** dans la zone **Probing** . *Résultat :* La chambre de sondage est remplie de quelques millilitres de la première solution du tableau séquentiel de sondage (par défaut la solution de blocage). ***Remarque :*** *Une fois la chambre de sondage préremplie :* • *Il n'est plus possible de change le type de la première étape du tableau séquentiel de sondage. Cependant,* **Dur. [min]** *et* **Repeat** *peuvent être modifiés.* • *Le bouton***Pre-Fill** *devient un bouton* **Start** *et le message d'état* **Ready for Probing** *est affiché.*



Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
 2		Ouvrir le couvercle du compartiment de sondage et utiliser le fermoir pour ouvrir le couvercle de la chambre de sondage.
 3		Ouvrir le support de transfert et retirer l'éponge et le papier de transfert en haut de la plaque PVDF.
 4		• Retirer la plaque PVDF du support de transfert. Maintenir les poignées de la plaque PVDF avec vos doigts ou à l'aide de pinces plates. • Placer la plaque PVDF dans la chambre de sondage, voir l'étape 5. • Pour le nettoyage du support de transfert et la prise en charge des déchets, voir *Nettoyer le support de transfert, en page 167*.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
	 	Plaque Placer la plaque PVDF dans la chambre de sondage préremplie en faisant correspondre les orifices de la plaque PVDF et les goupilles de guidage (marquées de cercles orange) et rouler la plaque PVDF vers le bas dans la chambre de sondage. ***Remarque :*** *Veiller à ne pas toucher la zone d'absorption de la plaque PVDF.*
	 	Fermer le couvercle de la chambre de sondage et le couvercle du compartiment de sondage. S'assurer que le couvercle de la chambre de sondage est verrouillé par le fermoir.

Démarrer et surveiller le sondage



Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		Dans le logiciel, cliquer sur l'étape du flux de travail ***PROBING & DRYING*** .
2		Utiliser les paramètres par défaut pour les ***Probing steps*** dans la zone ***Probing*** comme indiqué dans la capture d'écran.
3		Cliquer sur ***Start***. *Résultat :* Le sondage démarre. L'étape du sondage en cours est affichée dans la zone ***Probing***.

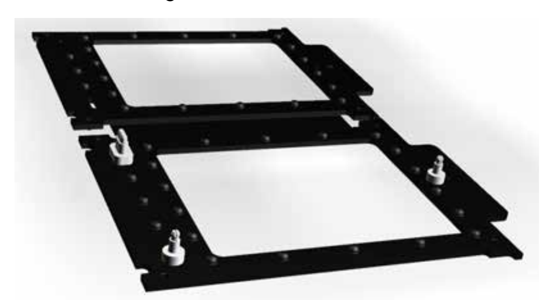
5.8.3 Procédures après le sondage

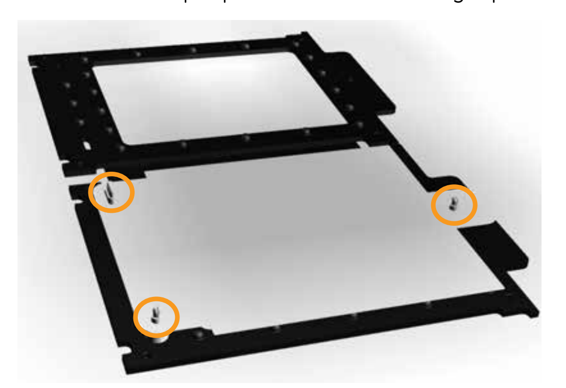
Introduction

Cette section décrit comment :

- placer la plaque PVDF dans le support de séchage
- placer le support de séchage dans le compartiment de séchage et lancer le séchage
- nettoyer le circuit de sondage

Déplacer la(les) plaque(s) PVDF vers le compartiment de séchage

Étape	Action
1	Retirer un Amersham WB drying holder (support de séchage) du compartiment de séchage et l'ouvrir. 
2	Maintenir les poignées de la plaque PVDF avec vos doigts ou à l'aide de pinces plates et soulever la plaque PVDF de la chambre de sondage.

Étape	Action
3	Placer la plaque PVDF dans le support de séchage en faisant correspondre les orifices de la plaque PDVF avec les trois goupilles de guidage. 
4	Fermer le support de séchage. S'assurer que le couvercle du support de séchage est verrouillé par le fermoir. 

Étape	Action
5	Placer le(s) support(s) de séchage dans la position correcte dans le compartiment de séchage (c'est à dire, la plaque PVDF en position de sondage **A** vers la position de séchage **A**). 

Nettoyer le circuit de sondage

Remarque : *Avant de procéder au nettoyage, déplacer la(les) plaque(s) PVDF vers le compartiment de séchage (voir instructions ci-dessus).*

Étape	Action
1	Quand le sondage est terminé, la boîte de dialogue ***Probing Completed – Clean Probing Flow Path*** s'ouvre. ***Remarque :*** *Il est recommandé de nettoyer le circuit de sondage après une analyse.* *Si vous choisissez de ne pas réaliser le nettoyage du circuit de sondage, appuyer sur **Cancel** et passer au Section 5.8.4 Exécuter le séchage, en page 182. Cependant, il faudra nettoyer le circuit de sondage à un stade ultérieur de l'analyse. Le nettoyage peut être réalisé en sélectionnant **Control:Clean Probing flow path** à partir de la barre de menu.* *Si le nettoyage n'a pas été effectué, le circuit de sondage doit être vidé manuellement, en sélectionnant **Empty Probing chamber** à partir du **Control** menu.*

Étape	Action
2	Insérer de nouveaux tubes de solutions d'anticorps vides dans le compartiment des anticorps. ***Remarque :*** *Toujours insérer **quatre** nouveaux tubes vides.*
3	Essuyer la tubulure de sondage **P Block**, **P Wash** et **P Final Wash** à l'aide d'un tissu humide et déplacer la tubulure vers le flacon d'eau ultra pure (contenant la tubulure **P Water**). Dans la boîte de dialogue du logiciel, vérifier la quantité d'eau ultra pure nécessaire pour le nettoyage, s'assurer que le flacon contient au moins cette quantité d'eau.
4	Cliquer sur ***Start clean*** dans la boîte de dialogue ***Probing completed – clean probing system***. Le nettoyage démarre et dure environ 13 minutes. ***Remarque :*** *Le séchage des membranes peut démarrer pendant le nettoyage du circuit de sondage.*
5	Quand le nettoyage est terminé, jeter la solution dans le flacon contenant de l'eau et jeter l'eau dans les tubes de solution d'anticorps. Placer la tubulure dans un flacon vide.

5.8.4 Exécuter le séchage

Introduction

Cette section décrit comment réaliser le séchage des plaques PDVF. Le séchage de la plaque PVDF va générer un bruit de fond faible et régulier ainsi que des signaux plus forts.

Exécuter le séchage



Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1		S'assurer que les supports de séchage avec la(les) plaque(s) PVDF ont été placés dans les positions correctes dans le compartiment (c'est-à-dire, la plaque PVDF en position de sondage A vers la position de séchage A).
2		Au cours de l'étape du flux de travail ***PROBING & DRYING*** du logiciel, cliquer sur ***Start*** dans la zone ***Drying***.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
	 	Quand le séchage est terminé : • Ouvrir le couvercle du compartiment de séchage. • Retirer le(s) support(s) de séchage. • La plaque PVDF est prête pour le balayage. Procéder au *Section 5.9 Balayer la membrane et voir les résultats, en page 184*. ***Remarque :*** *Si les membranes ne sont pas complètement sèches, cliquer sur* ***Start*** *dans la zone* ***Drying*** *pour exécuter à nouveau le séchage.*

5.9 Balayer la membrane et voir les résultats

Introduction

Cette section décrit comment :

- placer la plaque PVDF dans l'unité Elpho & scan
- démarrer et surveiller le balayage
- voir les résultats du balayage

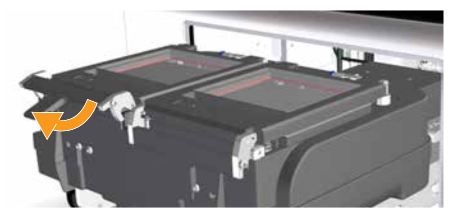
Placer la plaque PVDF dans le chargeur



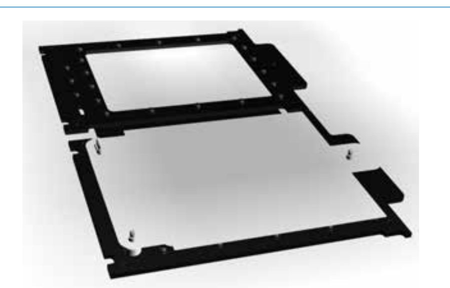
MISE EN GARDE

Parties mobiles. Veiller lors de l'ouverture/de la fermeture du chargeur à ce que vos doigts ou vos vêtements ne soient pas coincés quand le chargeur se déplace.

Ne jamais placer de bouteilles ou de flacons devant l'appareil Elpho & scan. Ils sont susceptibles de tomber quand le chargeur est ouvert.

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
		Appuyer sur le bouton d'éjection de l'unité Elpho & scan.  *Résultat :* Le chargeur est éjecté.
		• Tourner le fermoir vers le haut et ouvrir le couvercle d'étanchéité. • Essuyer toute trace de liquide et de salissure de la vitre de protection du plateau des plaques à l'aide d'un tissu non pelucheux.

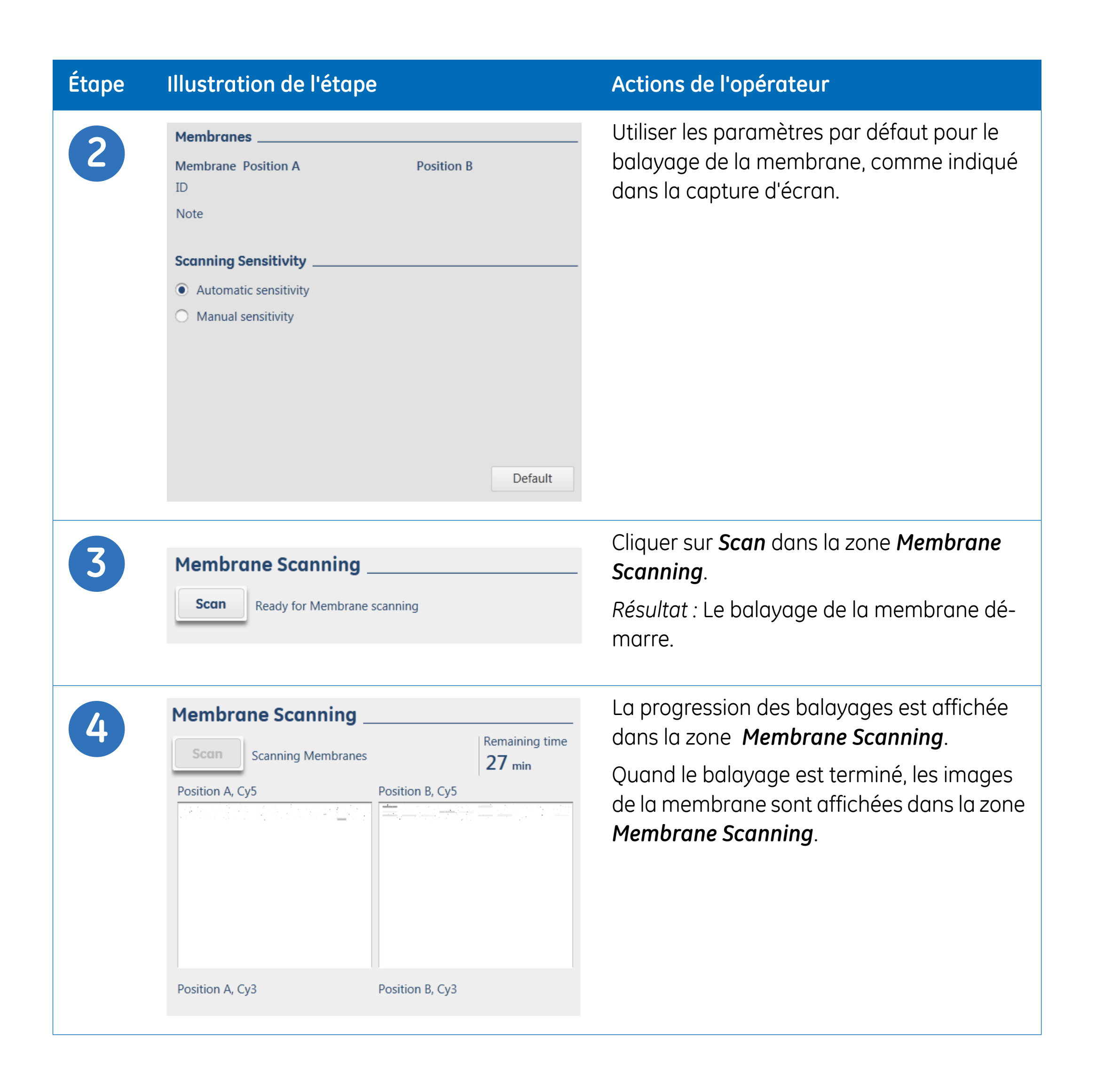


Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
		• Retirer un adaptateur de membrane du compartiment des anticorps de l'unité Western. **Remarque :** *S'assurer que l'adaptateur de membrane est propre et sec.* • Ouvrir l'adaptateur de membrane et le placer sur le plateau des plaques en faisant correspondre les orifices de guidage de l'adaptateur de membrane et les goupilles de guidage. **Remarque :** *Prendre soin de ne pas rayer le plateau des plaques avec un objet tranchant*.
		Ouvrir le support de séchage.
		Retirer la plaque PVDF du support de séchage et la placer dans l'adaptateur de membrane, en faisant correspondre les orifices de guidage avec les goupilles de guidage. **Remarque :** *Veiller à ne pas toucher la zone d'absorption de la plaque PVDF .*

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
6		Fermer l'adaptateur de membrane.
7		Fermer le couvercle d'étanchéité.
8		Appuyer sur le bouton d'éjection de l'unité Elpho & scan. *Résultat :* Le chargeur est fermé.

Démarrer et surveiller le balayage de la membrane

Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
1	MEMBRANE SCANNING	Plaque Dans le logiciel, cliquer sur l'étape du flux de travail ***MEMBRANE SCANNING*** .



Étape	Illustration de l'étape	Actions de l'opérateur
2	Membranes; Membrane ID; Position A; Position B; Note; Scanning Sensitivity; Automatic sensitivity; Manual sensitivity; Default	Utiliser les paramètres par défaut pour le balayage de la membrane, comme indiqué dans la capture d'écran.
3	Membrane Scanning; Scan; Ready for Membrane scanning	Cliquer sur ***Scan*** dans la zone ***Membrane Scanning***. *Résultat :* Le balayage de la membrane démarre.
4	Membrane Scanning; Scan; Scanning Membranes; Remaining time 27 min; Position A, Cy5; Position B, Cy5; Position A, Cy3; Position B, Cy3	La progression des balayages est affichée dans la zone ***Membrane Scanning***. Quand le balayage est terminé, les images de la membrane sont affichées dans la zone ***Membrane Scanning***.

Afficher les résultats

Étape	Action
1	Cliquer sur l'étape du flux de travail ***EVALUATION*** dans le logiciel. *Résultat :* Les images dans la zone ***Membrane Scanning*** sont évaluées. La progression de l'évaluation est affichée dans une barre de progression.

Étape	Action
2	Quand l'évaluation des images a été réalisée, les images sont affichées dans l'écran Évaluation, qui montre les valeurs normalisées pour l'analyse dans l'onglet ***Bar chart***. Pour plus d'informations sur la méthode d'analyse des résultats, voir le *User Manual* ou *software help*.

Procédures après le balayage de la membrane

Étape	Action
1	Appuyer sur le bouton d'éjection de l'unité Elpho & scan. *Résultat :* Le chargeur est éjecté.
2	Ouvrir le couvercle d'étanchéité.
3	Retirer l'adaptateur de membrane avec la plaque PVDF du plateau des plaques.
4	Retirer la plaque PVDF de l'adaptateur de membrane. ***Astuce :*** *La plaque PVDF peut être stockée à l'état sec entre deux papiers filtres dans son emballage PVDF d'origine. Les signaux de la plaque PVDF séchée restent stables pendant environ 3 mois.*
5	Nettoyer les adaptateurs de membrane, à l'aide d'un tissu non pelucheux, et remettre les adaptateurs dans l'espace de stockage du compartiment des anticorps.
6	Nettoyer les supports de séchage à l'aide d'un chiffon propre et non pelucheux puis remettre les supports dans le compartiment de séchage.
7	Essuyer le plateau des plaques, à l'aide d'un tissu non pelucheux, imprégné si nécessaire d'éthanol à 50 %.
8	Essuyer la vitre de protection, à l'aide d'un tissu non pelucheux, imprégné si nécessaire d'éthanol à 50 %. ***Remarque :*** *Il est important de garder la vitre de protection propre en vue d'obtenir un bon résultat lors du balayage des plaques de gel et des plaquesPVDF.*

Étape	Action
9	Fermer le couvercle d'étanchéité et appuyer sur le bouton d'éjection de l'unité Elpho & scan. *Résultat :* Le chargeur est inséré.

6 Maintenance

À propos de ce chapitre

Cette section répertorie les activités de maintenance périodique qui doivent être réalisées par l'utilisateur du Amersham WB analyzer, ainsi que les activités de maintenance qui doivent être réalisées si nécessaire.

Précautions d'emploi



AVERTISSEMENT

Ne pas utiliser le Amersham WB analyzer s'il ne fonctionne pas correctement ou s'il est endommagé. Par exemple :

- le cordon électrique ou la prise est endommagé(e)
- l'appareil est tombé et s'est endommagé
- les dommages touchant d'autres parties qui peuvent affecter le fonctionnement



AVERTISSEMENT

Risque de choc électrique Toutes les réparations doivent être réalisées par un personnel agréé par GE. Ne pas ouvrir de capots ou remplacer des pièces sauf mention spécifique dans le manuel d'utilisation.



AVERTISSEMENT

Débrancher l'alimentation. Toujours débrancher l'alimentation de l'instrument avant de remplacer un de ses composants, sauf mention contraire dans le manuel d'utilisation.



AVERTISSEMENT

Lors de l'utilisation de substances chimiques dangereuses, éviter tout déversement et porter des lunettes de sécurité et d'autres équipements de protection individuelle appropriés. Par exemple, la solution NaOH est corrosive et, par conséquent, dangereuse pour la santé.



AVERTISSEMENT

Seuls les pièces de rechange et accessoires approuvés ou fournis par GE peuvent être utilisés pour la maintenance ou les réparations du système.



AVERTISSEMENT

En cas de remplacement d'un cordon d'alimentation endommagé, utiliser un cordon du même type, de même dimension, conforme à toutes les exigences en vigueur du code électrique local et approuvées par GE.



AVERTISSEMENT

Toujours débrancher l'alimentation secteur avant de remplacer le fusible du secteur. Pour une protection continue contre le risque d'incendie, ne remplacer un fusible que par un fusible du même type comme indiqué sur le étiquettes de l'instrument.



MISE EN GARDE

Lors de l'utilisation de substances chimiques dangereuses, prendre toutes les mesures de protection appropriées (port de lunettes de sécurité et de gants résistants aux substances chimiques utilisées). Suivre les réglementations et instructions locales pour une utilisation et une maintenance du système en toute sécurité.

Dans ce chapitre

Ce chapitre comporte les sections suivantes :

6.1 Programme de maintenance

Introduction

Cette section récapitule les activités de maintenance qui doivent être réalisées par l'utilisateur du Amersham WB analyzer. La maintenance est divisée en :

- À chaque analyse
- Maintenance hebdomadaire
- Maintenance mensuelle
- Maintenance annuelle
- Maintenance si nécessaire

Programme de maintenance périodique

La maintenance périodique suivante qui doit être réalisée par l'utilisateur du Amersham WB analyzer.

Intervalle	Action de maintenance	Instructions
Après chaque analyse dans l'unité Elpho & scan		
	• Essuyer tout liquide sur le plateau des plaques • Essuyer tout liquide ou salissure de la vitre de protection du couvercle d'étanchéité • Vérifier que la vitre du couvercle d'étanchéité ne porte pas de rayures ou de marques et qu'elle est bien attachée au cadre • Inspecter le fermoir du couvercle d'étanchéité quand le cadre est fermé et retirer toute salissure	Utiliser un tissu non pelucheux ou un papier doux pour ne pas rayer la vitre de protection ou le plateau des plaques. Utiliser un tissu non pelucheux imprégné d'éthanol à 50 % pour éliminer les taches. Contacter le département Entretien si vous devez remplacer une partie du couvercle d'étanchéité.
	Nettoyer les supports des bandelettes de tampon	Nettoyer les supports des bandelettes de tampon à l'aide d'eau du robinet pour retirer les sels et le tampon. Laisser les supports des bandelettes de tampon sécher à l'air, à l'envers.
	Nettoyer les adaptateurs de membrane	Nettoyer les adaptateurs de membrane, à l'aide d'un tissu non pelucheux et les placer dans l'espace de stockage du compartiment des anticorps.

Intervalle	Action de maintenance	Instructions
Après chaque analyse dans l'unité Western		
	Nettoyer le circuit de transfert	Si le circuit de transfert n'a pas été nettoyé après la réalisation du transfert, démarrer la procédure d'analyse en appuyant ***Control***:***Clean Transfer flow path*** sur la barre de menu.
	Nettoyer le circuit de sondage	Si le circuit de sondage n'a pas été nettoyé après la réalisation du sondage, lancer la procédure de nettoyage en appuyant ***Control***:***Clean Probing flow path*** sur la barre de menu.
	Nettoyer le support de transfert	Voir *Nettoyer le support de transfert, en page 167*.
	Nettoyer les supports de séchage	Nettoyer les supports de séchage à l'aide d'un chiffon non pelucheux et les placer dans le compartiment de séchage.
	Retirer toutes les particules présentes dans le réservoir de transfert	Inspecter le réservoir et retirer tous le restes de gel ou de fibres de papier à l'aide de pinces. Vérifier le filtre du réservoir de transfert et le remplacer s'il est sale, voir *Remplacer le filtre du réservoir de transfert, en page 212*.
	Nettoyer la partie supérieure du réservoir de transfert	Essuyer la partie supérieure du réservoir de transfert avec un tissu humide.

Intervalle	Action de maintenance	Instructions
Une fois par semaine (ou quand l'instrument n'a pas été utilisé pendant quelques jours)		
	Nettoyage de maintenance du circuit de transfert	Voir *Section 6.2.1 Nettoyage hebdomadaire des circuits de transfert et de sondage, en page 199*.
	Nettoyage de maintenance du circuit de sondage	Voir *Section 6.2.1 Nettoyage hebdomadaire des circuits de transfert et de sondage, en page 199*.
	Inspecter et remplacer en cas de dommages, les : • pompes • tubulure • filtre à air • filtres d'entrée	Voir *Section 6.2.2 Procédures de remplacement, en page 203* pour plus d'informations sur comment remplacer les têtes de pompes, le filtre à air et le filtre d'entrée. Contacter le département Entretien si vous devez remplacer la tubulure.
	Inspecter et serrer les connecteurs de la tubulure	

Intervalle	Action de maintenance	Instructions
Annuellement		
	Remplacer le filtre à air du module du dispositif de séchage Le filtre à air peut devoir être remplacé plus souvent si l'environnement externe est plus difficile qu'un environnement de laboratoire normal en ce qui concerne la présence de poussière dans l'air.	Voir *Remplacer le filtre à air, en page 204*.
	Remplacer la tête de la pompe de transfert	Voir *Remplacer la tête de la pompe de sondage ou de transfert, en page 207*.
	Remplacer la tête de la pompe de sondage	Voir *Remplacer la tête de la pompe de sondage ou de transfert, en page 207*.

Intervalle	Action de maintenance	Instructions
Lorsque cela est nécessaire		
	Nettoyer le compartiment de séchage	Nettoyer le compartiment de séchage de toute poussière ou particule à l'aide d'un tissu non pelucheux imbibé d'eau ultra pure. Laisser le compartiment sécher avant utilisation.
	Remplacer les électrodes de transfert	Voir *Remplacer les électrodes de transfert, en page 210*.
	Remplacer les supports des bandelettes de tampon	Voir Amersham WB system User Manual pour des informations relatives à la commande.
	Remplacer le fusible secteur	Voir *Remplacer le fusible secteur, en page 213*.
	Remplacer le cordon d'alimentation endommagé	Voir *Précautions* au début de ce chapitre.
	Remplacer le filtre dans le réservoir de transfert	Inspecter le filtre et, s'il est sale ou endommagé, le remplacer. Voir *Remplacer le filtre du réservoir de transfert, en page 212*.
	Remplacer les filtres d'entrée	Voir *Remplacer les filtres d'entrée, en page 213*.

6.2 Instructions relatives à la maintenance

Introduction

Cette section décrit la maintenance qui doit être réalisée sur le Amersham WB analyzer.

Dans cette section

Cette section comporte les sous-sections suivantes :

6.2.1 Nettoyage hebdomadaire des circuits de transfert et de sondage

Introduction

Procéder au nettoyage de maintenance des circuits de transfert et de sondage de façon hebdomadaire ou si l'unité n'a pas été utilisée depuis deux jours.

Nettoyage de maintenance du circuit de transfert

La procédure dure environ 25 minutes. Le sondage et le séchage peuvent être exécutés en parallèle

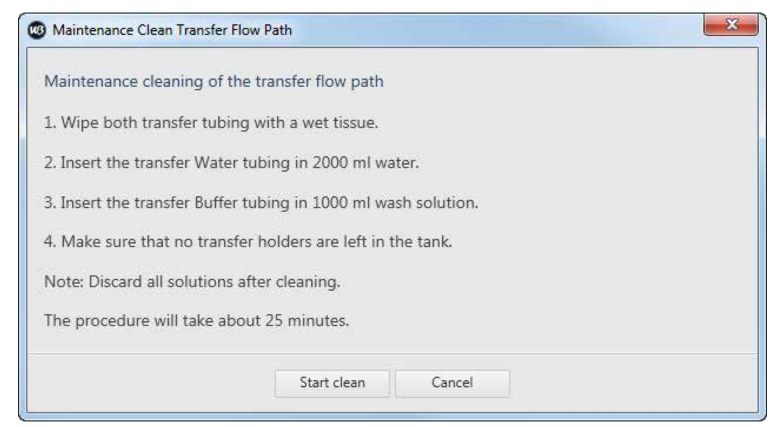
Remarque : *S'assurer de l'absence de supports de transfert dans le réservoir.*



AVERTISSEMENT

Lors de l'utilisation de substances chimiques dangereuses, éviter tout déversement et porter des lunettes de sécurité et d'autres équipements de protection individuelle appropriés. Par exemple, la solution NaOH est corrosive et, par conséquent, dangereuse pour la santé.

Étape	Action
1	Sélectionner dans le logiciel, ***Control:Maintenance clean Transfer flow path*** ou cliquer sur le bouton ***Maintenance clean Transfer*** dans l'écran de démarrage du logiciel. *Résultat :* La boîte de dialogue ***Maintenance Clean Transfer Flow Path*** s'ouvre.



Étape	Action
2	• Essuyer la partie supérieure du réservoir de transfert et les deux tubulures de transfert avec un tissu humide. • Vérifier que le filtre du réservoir de transfert est intact et propre. Si nécessaire, remplacer le filtre.
3	Immerger la **T Water** tubulure dans un flacon contenant 2 000 ml d'eau ultra pure.
4	Immerger la tubulure **T Buffer** dans un flacon contenant 1000 ml de NaOH 0,5 M.
5	Cliquer sur le bouton ***Start clean*** dans la boîte de dialogue.
6	Quand le nettoyage est terminé, transférer la tubulure dans un flacon vide.

Remarque : *Jeter toutes les solutions après le nettoyage.*

Nettoyage de maintenance du circuit de sondage

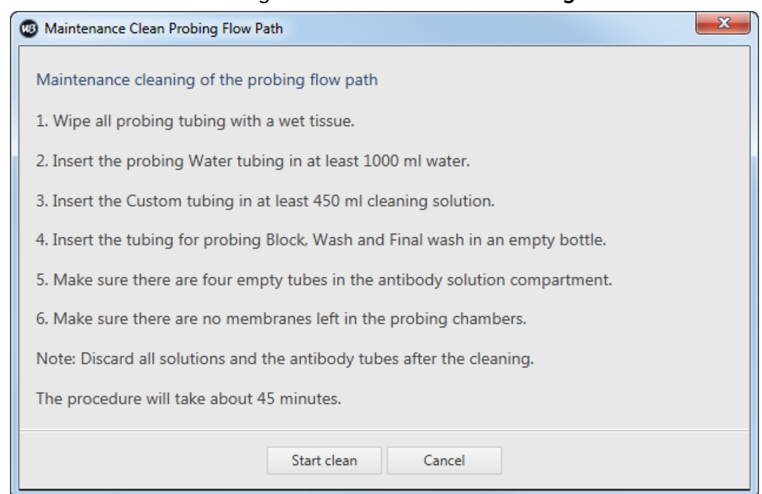
La procédure dure environ 45 minutes. Le transfert et le séchage peuvent être exécutés en parallèle.

Remarque : *S'assurer de l'absence de plaques PVDF dans les chambres de sondage.*



AVERTISSEMENT

Lors de l'utilisation de substances chimiques dangereuses, éviter tout déversement et porter des lunettes de sécurité et d'autres équipements de protection individuelle appropriés. Par exemple, la solution NaOH est corrosive et, par conséquent, dangereuse pour la santé.

Étape	Action
1	Sélectionner dans le logiciel, ***Control:Maintenance clean Probing flow path*** ou cliquer sur le bouton ***Maintenance clean Probing*** dans l'écran de démarrage du logiciel. *Résultat :* La boîte de dialogue ***Maintenance Clean Probing Flow Path*** s'ouvre. 
2	Essuyer la tubulure de sondage, le couvercle et les bords de la chambre de sondage avec un tissu humide.
3	Immerger la **P Water** tubulure dans un flacon contenant au minimum 1 000 ml d'eau ultra pure.
4	Immerger la tubulure **P Custom** dans un flacon contenant au moins 450 ml de NaOH 0,5 M.
5	Placer les tubulures **P Block**, **P Wash** et **P Final Wash** dans un flacon de déchets vide.
6	Insérer et connecter **quatre** tubes propres vides de 15 ml dans le compartiment des anticorps.
7	Cliquer sur ***Start clean*** dans la boîte de dialogue.

Étape	Action
8	Quand le nettoyage est terminé, transférer la tubulure dans un flacon vide.

Remarque : *Jeter toutes les solutions et les tubes d'anticorps après le nettoyage.*

6.2.2 Procédures de remplacement

Introduction

Cette section décrit comment remplacer le :

- filtre à air
- les têtes des pompes de transfert et de sondage
- les électrodes de transfert
- le filtre du réservoir de transfert
- filtres d'entrée
- le fusible secteur

Accessoires de maintenance

Les accessoires suivants sont nécessaires pour la maintenance du Amersham WB analyzer:

- tête des pompe (pour la pompe de transfert ou la pompe de sondage)
- filtre à air
- le filtre du réservoir de transfert
- les électrodes de transfert
- ensemble filtre d'entrée
- fusible (pour connaître les fusibles corrects, voir *Section 7.1 Spécifications du système, en page 217*)

Précautions d'emploi



AVERTISSEMENT

Débrancher l'alimentation. Toujours débrancher l'alimentation de l'instrument avant de remplacer un de ses composants, sauf mention contraire dans le manuel d'utilisation.



AVERTISSEMENT

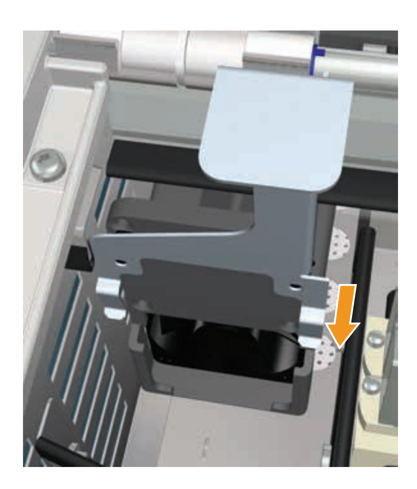
Retirer tous les flacons du porte-flacons avant d'ouvrir le couvercle du compartiment d'entretien.

Remplacer le filtre à air

Les instructions ci-dessous montrent comment remplacer le filtre à air.

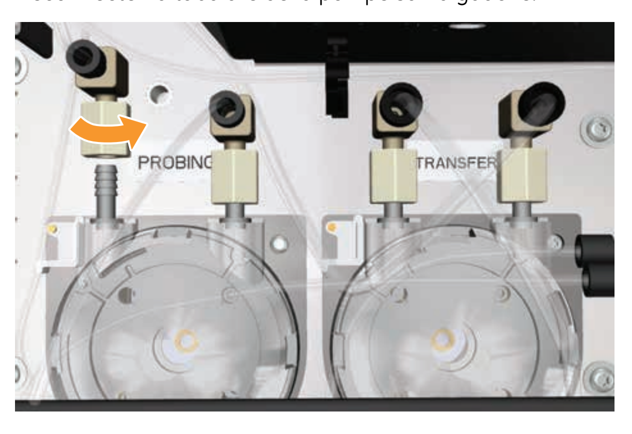
Étape	Action
1	Ouvrir le couvercle du compartiment d'entretien. 

Étape	Action
2	Ouvrir le couvercle au-dessus du compartiment où se trouve le filtre en faisant tourner l'écrou en sens inverse des aiguilles d'une montre et le retirer. 
3	Retirer le filtre du cadre en le tirant vers le haut par le support qui lui est fixé. 
4	Retirer la partie supérieure de la grille en plastique du support, là où se trouve le filtre.
5	Remplacer le filtre par un neuf et attacher la partie supérieure de la grille en plastique.

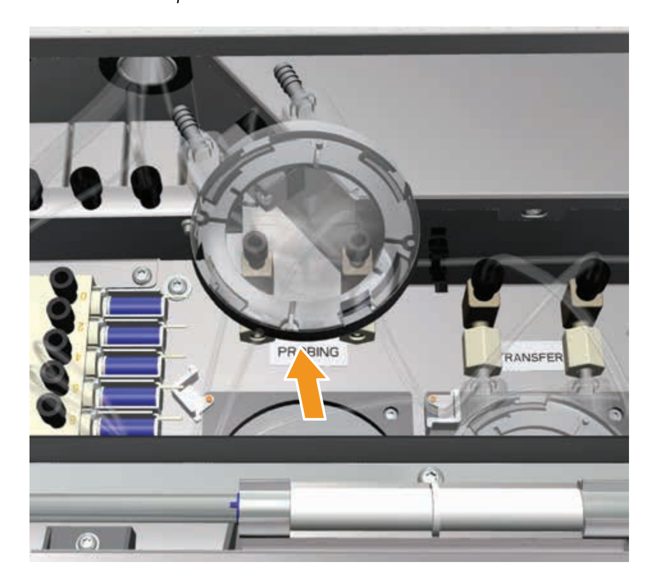
Étape	Action
6	Insérer le nouveau filtre dans le support dans les guides du cadre. 
7	Remettre en place le couvercle du compartiment du filtre et serrer l'écrou en le faisant tourner dans le sens des aiguilles d'une montre.
8	Fermer le couvercle du compartiment d'entretien.

Remplacer la tête de la pompe de sondage ou de transfert

Les instructions ci-dessous décrivent comment remplacer une tête de pompe en prenant la pompe de sondage comme exemple. Le remplacement de la tête de la pompe de transfert est similaire.

Étape	Action
1	Ouvrir le couvercle du compartiment d'entretien pour accéder aux pompes de sondage et de transfert.  ***Remarque :*** *La pompe de sondage se trouve sur la gauche et la pompe de transfert sur la droite.*
2	Déconnecter la tubulure de la pompe sur la gauche. 

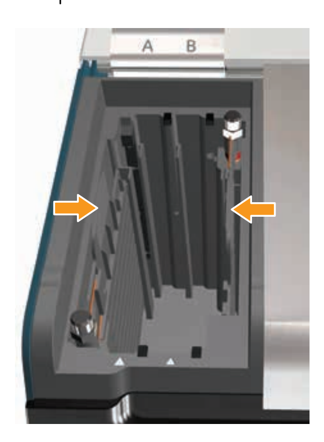
Étape	Action
3	Déconnecter la tubulure de la pompe sur la droite. 
4	Déverrouiller le loquet qui maintient la tête de la pompe en position. 

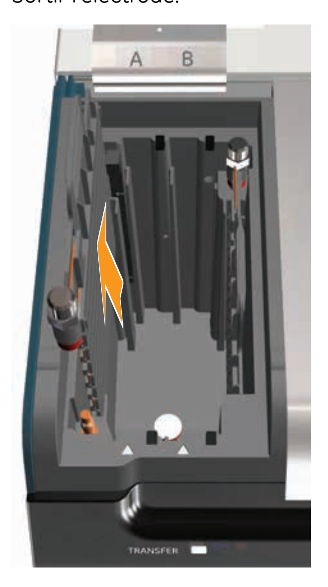
Étape	Action
5	Faire tourner la tête de la pompe en sens inverse des aiguilles d'une montre. 
6	Soulever la tête de la pompe hors du compartiment d'entretien. ***Remarque :*** *Lors du retrait de la tête, prendre soin de ne pas endommager ou tordre aucune des tubulures de l'unité Western. Si une tubulure est endommagée ou tordue elle devra être remplacée par une neuve. Si vous avez besoin d'aide, contacter le département Entretien.* 
7	Déballer une nouvelle tête de pompe.

Étape	Action
8	Placer la nouvelle tête de pompe dans la position correcte et la faire tourner dans le sens des aiguilles d'une montre. ***Remarque :*** *S'assurer que la roue correspondante de la tête de pompe est dans la position correcte pour s'adapter à l'arbre de commande du moteur de la pompe.*
9	Verrouiller le loquet pour maintenir la tête de pompe en position correcte.
10	Connecter la tubulure de la pompe sur la droite, au connecteur droit de la tête de la pompe.
11	Connecter la tubulure de la pompe sur la gauche, au connecteur gauche de la tête de la pompe.
12	Fermer le couvercle du compartiment d'entretien.

Remplacer les électrodes de transfert

Si la procédure de transfert échoue, la raison peut en être des électrodes de transfert défectueuses. Il est recommandé de remplacer les deux électrodes. Les instructions ci-dessous décrivent comment remplacer les électrodes de transfert.

Étape	Action
1	Ouvrir le couvercle du réservoir de transfert. Les électrodes sont situées de chaque côté. 

Étape	Action
2	Sortir l'électrode. 
3	Insérer la nouvelle électrode et appuyer. 
4	Répéter la même procédure avec l'électrode du côté droit.
5	Fermer le couvercle du réservoir de transfert.

Remplacer le filtre du réservoir de transfert

Remarque : *Si le filtre de transfert est sale, il n'est pas possible de le retirer, le nettoyer et le remettre en place. Le filtre doit être remplacé.*

Les instructions ci-dessous décrivent comment remplacer le filtre du réservoir de transfert.

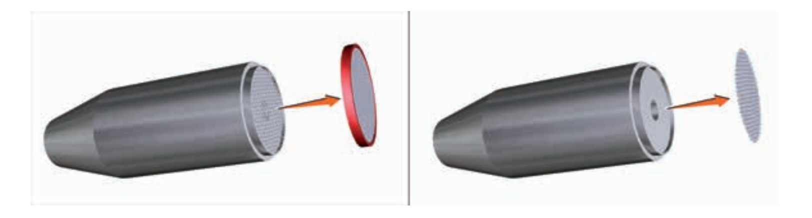
Étape	Action
1	Ouvrir le couvercle du réservoir de transfert. Le filtre se trouve au bas du réservoir de transfert. 
2	Percer le filtre en son milieu à l'aide de pinces. **Remarque :** *Ne pas retirer le filtre en le saisissant par les bords car cela peut endommager le joint d'étanchéité du filtre.*
3	Utilise le trou fait pour saisir et retirer le filtre.
4	Placer le nouveau filtre et l'appuyer délicatement sur le joint d'étanchéité.

Remplacer les filtres d'entrée

Remplacer le filtre d'entrée si nécessaire, par exemple quand les filtres se colmatent.

Matériel requis : Ensemble filtre d'entrée.

Suivre les instructions ci-dessous pour remplacer un filtre d'entrée et un filet de maintien.

Étape	Action
1	Retirez le filtre d'entrée et le filet de maintien du support de filtre. 
2	Placer le nouveau filet de maintien et le filtre d'entrée sur le support du filtre d'entrée et appuyer sur le filtre pour le mettre en position.

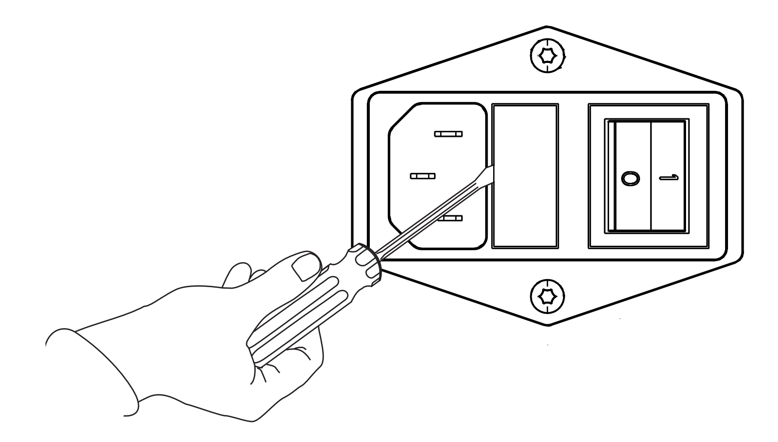
Remplacer le fusible secteur



AVERTISSEMENT

Toujours débrancher l'alimentation secteur avant de remplacer le fusible du secteur. Pour une protection continue contre le risque d'incendie, ne remplacer un fusible que par un fusible du même type comme indiqué sur le étiquettes de l'instrument.

Étape	Action
1	Mettre l'alimentation électrique du Amersham WB analyzer hors tension en mettant les boutons d'alimentation qui se trouvent sur les panneaux arrière des unités Elpho & scan et Western en position off (**0**).
2	Débrancher les cordons secteur des entrées d'alimentation secteur des unités Elpho & scan et Western.
3	Repérer le tiroir à fusibles dans le panneau des connecteurs de l'unité appropriée.

Étape	Action
4	Insérez un petit tournevis dans l'encoche près du tiroir du fusible. 
5	Tourner le tournevis pour ouvrir le tiroir à fusibles.
6	Remplacer les fusibles. Les données des fusibles se trouvent sur les étiquettes, sur les panneaux arrière des unités de l'instrument.
7	Insérez le tiroir du fusible dans la fiche du panneau du connecteur.

6.2.3 Déplacement des unités de l'instrument

Précautions d'emploi



MISE EN GARDE

Équipement de protection individuelle (EPI). En cas d'emballage, déballage, transport ou déplacement du système, porter :

- des chaussures de sécurité, de préférence avec une doublure en acier
- des gants de travail protégeant contre les arêtes tranchantes.
- Lunettes de protection



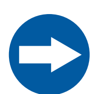
MISE EN GARDE

Objet lourd. Deux personnes sont nécessaires pour soulever l'instrument en toute sécurité.



MISE EN GARDE

Ne jamais déplacer le Western avec les flacons posés sur l'instrument.



AVIS

Débrancher les câbles. Pour éviter que l'équipement ne subisse des dommages, débrancher toujours les câbles avant de déplacer un instrument.

Instructions relatives au levage

Étape	Action
1	Débrancher tous les cordons et les câbles des unités de l'instrument et retirer tous les flacons présents sur les unités.
2	La présence de deux personnes est nécessaire. Pour soulever une unité, la saisir à deux mains de chaque côté et soulever.

7 Informations de référence

À propos de ce chapitre

Ce chapitre récapitule les spécifications techniques du Amersham WB analyzer. Ce chapitre comporte également un guide de résistance chimique et un rapport de décontamination qui doit être utilisé pour enregistrer les détails de la décontamination avant un entretien.

Dans ce chapitre

Ce chapitre comporte les sections suivantes :

7.1 Spécifications du système

Introduction

Cette section répertorie les données de spécification du système Amersham WB analyzer.

Plages environnementales

Paramètre	Données
Plage de température pour le stockage et le transport	-25 à +60 °C
Environnement chimique	Voir *Section 7.2 Guide de résistance chimique, en page 222*.

Plage de fonctionnement

Paramètre	Limites
Plage de température de fonctionnement	15 °C à 32 °C Pour des performances complètes : 16 °C à 28 °C
Humidité relative	20 % à 80 %, sans condensation Pour des performances complètes : 20 % à 70 %, sans condensation
Altitude	2 000 m maximum
Degré de pollution	2
Transitoire	Surtension de catégorie II
Environnement	À usage intérieur uniquement

Spécifications du système Amersham WB analyzer

Paramètre	Données
Configuration du système	Système sur paillasse constitué d'un ordinateur externe et de deux unités : l'unité Elpho & scan et l'unité Western L'ordinateur n'est pas inclus dans la livraison.
Système d'exploitation contrôlant l'ordinateur	PC sous Windows 7
Logiciel de commande	Amersham WB software
Connexion entre les unités Elpho & scan et Western	Câble Ethernet
Connexion entre le PC et l'unité Elpho & scan	Câble USB (Type A et Type B)
Degré de pollution	2
Niveau de son	Inférieur à 80 dB(A)

Spécifications système de l'unité Elpho & scan

Paramètre	Données
Dimensions (L x P x H)	47 x 51 x 27 cm
Poids (sans l'ordinateur)	25 kg
Alimentation électrique	Tension : 100-240 V AC ±10 % Fréquence : 50-60 Hz
Consommation électrique	Puissance max. : 300 VA
Fuse	2x T4AH 250 V

Spécifications du scanner

Paramètre	Données
Capteur d'image	Photodiode en silicium
Délai de chauffage	Au moins 1 minute ***Remarque :*** *Le délai de chauffage est inclus en mode Sensibilité automatique.*
Lentille	F1,0/13 mm
Source lumineuse	Cy5: Module de diode laser, 635 nm, 10 mW
	Cy3: Module de diode laser, 532 nm, 10 mW.
Fonctionnement	Totalement automatique (exposition automatique, aucune mise au point ou autre réglage ou étalonnage nécessaire)
Taille maximale d'échantillon	2 échantillons d'environ 80 x 65 mm^2
Échelle de gris	65 536 niveaux (16 bits)
Gamme dynamique	4,6 ordres de grandeur
Sortie de l'image	Échelle de gris 16 bits (tif)

Spécifications de la séparation

Paramètre	Description
Tension	250-600 V [1]
Courant	20-50 mA[1]

1 Puissance maximum de 20 W/plaque de gel. Les valeurs maximum des paramètres ne peuvent pas être atteintes simultanément.

Spécifications système de l'unité Western

Paramètre	Données
Dimensions (L x P x H)	43 x 53 x 39 cm
Poids	20 kg
Alimentation électrique	Tension : 100-240 V~ Fréquence : 50-60 Hz
Consommation électrique	Puissance max. : 400 VA
Fuse	2x T4AH 250 V
Tubulure de transfert et connecteurs	Matériau des tubulures : FEP, ID 1/8" Ferrule bleue Connecteur de la tubulure : Écrou 5/16"-24UNF 2-A
Tubulure de sondage et connecteurs	Matériau des tubulures : FEP, ID 0,063" Ferrule jaune Connecteur de la tubulure : Écrou 1/4"-28UNF 2-B

Spécifications du transfert

Paramètre	Description
Tension	10-100 V [1]

1 Puissance maximum de 40 W. Intensité maximum de 400 mA.

Spécifications du sondage

Paramètre	Description
Volumes, anticorps de sondage	5-12 ml

Spécifications du séchage

Paramètre	Description
Température	45 °C maximum
Temps de séchage	10 minutes

7.2 Guide de résistance chimique

Introduction

Cette section indique la résistance chimique du Amersham WB analyzer à certains des produits chimiques les plus couramment utilisés en électrophorèse et transfert de type Western.

Hypothèses

Les caractéristiques nominales se basent sur les hypothèses suivantes :

- Les effets synergiques des mélanges chimiques n'ont pas été pris en compte.
- Le système est utilisé à température ambiante et la surpression est limitée.

Remarque : *Les influences chimiques dépendent du temps et de la pression. Sauf indication contraire, toutes les concentrations sont à 100 %.*

Liste des produits chimiques

Pour une liste des produits chimiques dans les plaques de gel et les bandelettes de tampon, voir la Fiche de données de sécurité (SDS/MSDS).

Utilisation	Substance chimique	Concentration	N° CAS et n° EC
Généralité	Tampons aqueux pH 4-10 (par ex., Tris, Glycine, Phosphate)	0-0,2 M	S/O
Transfert	Éthanol	40%	64-17-5/200-578-6
	Méthanol	40%	67-56-1/200-659-6
Transfert & Sondage	Chlorure de sodium	0,2 M	7647-14-5/231-598-3
	Chlorure de potassium	50 mM	7447-40-7/231-211-8
	Tween	1%	9005-64-5/500-018-3
Nettoyage des circuits	Hydroxyde de sodium	0,5 M	1310-73-2/215-185-5
	Hypochlorite de sodium	5%	7681-52-9/231-668-3
Nettoyage du plateau des plaques	Éthanol	50%	64-17-5/200-578-6

Utilisation	Substance chimique	Concentration	N° CAS et n° EC
Nettoyage des surfaces	Éthanol	96%	64-17-5/200-578-6
	Détergents doux	S/O	S/O

7.3 Formulaire de déclaration de santé et de sécurité

Réparation sur site

Un rapport On Site Service Health & Safety Declaration Form, comme indiqué dans l'exemple ci-dessous, doit être utilisé pour enregistrer les détails de la décontamination avant un entretien sur site.



Déclaration de sécurité de maintenance sur site

Ticket de maintenance # :	

Chère Cliente, Cher Client,

Pour assurer la protection et la sécurité du personnel de maintenance de GE et de nos clients, tous les équipements et les aires de travail doivent être propres et exempts de tout contaminant dangereux avant qu'un ingénieur de maintenance ne commence une réparation. Pour éviter tout retard dans l'entretien de votre matériel, veuillez compléter cette liste et la présenter à l'ingénieur de maintenance dès son arrivée. L'équipement et les zones de travail qui ne sont pas suffisamment nettoyés, accessibles et sécurisés peuvent entraîner des retards dans l'entretien du matériel, ce qui pourrait faire l'objet de frais supplémentaires.

Oui	Non	Veuillez passer en revue les actions ci-dessous et répondez « Oui » ou « Non ». Fournissez des explications pour les réponses « Non » dans la case ci-dessous.
		L'instrument a été nettoyé des substances dangereuses. Veuillez rincer les tubes ou tuyaux, essuyer les surfaces du scanner, ou assurer l'enlèvement de tous les résidus dangereux. Assurez-vous que la zone autour de l'instrument est propre. Si la radioactivité a été utilisée, veuillez effectuer une vérification de contamination et prendre les actions nécessaires à la decontamination.
		Suffisamment d'espace et de dégagement est prévu pour permettre un accès en toute sécurité pour la maintenance, la réparation ou l'installation. Dans certains cas, il peut être nécessaire que le client déplace l'équipement de son emplacement normal de fonctionnement avant l'arrivée de GE.
		Les consommables, tels que les colonnes ou les gels, ont été enlevés ou isolés de l'instrument et de toute zone pouvant entraver l'accès à l'instrument.
		Tous les récipients à tampons/déchets sont étiquetés. Les conteneurs excédentaires ont été retirés de la zone pour en permettre l'accès.

Fournissez des explications pour les réponses «Non» ici :			
Type d'équipement/ N° du produit :		**N° de série :**	

Je confirme que l'équipement indiqué ci-dessus a été nettoyé pour enlever les substances dangereuses et que la zone a été sécurisée et est accessible.

Nom :		**Société ou institution :**	
Poste ou titre du poste :		**Date (année/mois/jour) :**	
Signature :			

Retour du produit ou entretien

Un rapport Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing, comme indiqué dans l'exemple ci-dessous, doit être utilisé pour enregistrer les détails de la décontamination avant un retour ou un entretien du produit.



Déclaration de santé et sécurité pour le retour ou l'entretien d'un produit

Numéro d'autorisation de retour :		*et/ou* **Billet/Demande de service :**	

Afin de nous assurer de la protection et de la sécurité mutuelles du personnel de GE, de nos clients, du personnel de transport et de notre environnement, tous les équipements doivent être propres et exempts de tout contaminant dangereux avant d'être expédiés à GE. Pour éviter tout retard dans le traitement de votre équipement, veuillez remplir la liste de vérification suivante et l'inclure à votre retour.

1. Veuillez noter que les articles NE seront PAS acceptés aux fins d'entretien ou à titre de retour sans ce formulaire
2. Tout équipement n'étant pas suffisamment nettoyé avant son retour risque d'entraîner des retards dans l'entretien, ce qui pourrait faire l'objet de frais supplémentaires
3. Une contamination visible sera considérée comme dangereuse et des frais supplémentaires de nettoyage et de décontamination seront appliqués.

Oui	Non	Veuillez spécifier si l'équipement a été en contact avec l'un des éléments de la liste suivante :	
		Radioactivité (veuillez préciser)	
		Substances biologiques infectieuses ou dangereuses (veuillez préciser)	
		Autres substances chimiques dangereuses (veuillez préciser)	

L'équipement doit être décontaminé avant l'entretien ou le retour. Veuillez fournir un numéro de téléphone par lequel GE peut vous joindre pour obtenir des renseignements supplémentaires à propos du système ou de l'équipement.

No de téléphone :		
Description du liquide et/ou du gaz contenu dans l'équipement :	☐	**Eau**
	☐	**Éthanol**
	☐	**Sans objet (l'équipement est vide)**
	☐	**Argon, hélium, azote**
	☐	**Azote liquide**
	Autre (veuillez préciser)	

Type d'équipement/No de produit :		**No de série :**	

Je confirme par la présente que l'équipement indiqué ci-dessus a été nettoyé de manière à enlever toutes les substances dangereuses et que la zone a été sécurisée et est accessible.

Nom :		**Société ou institution :**	
Poste ou titre de l'emploi :		**Date (DD/MM/AAAA)**	
Signature :			

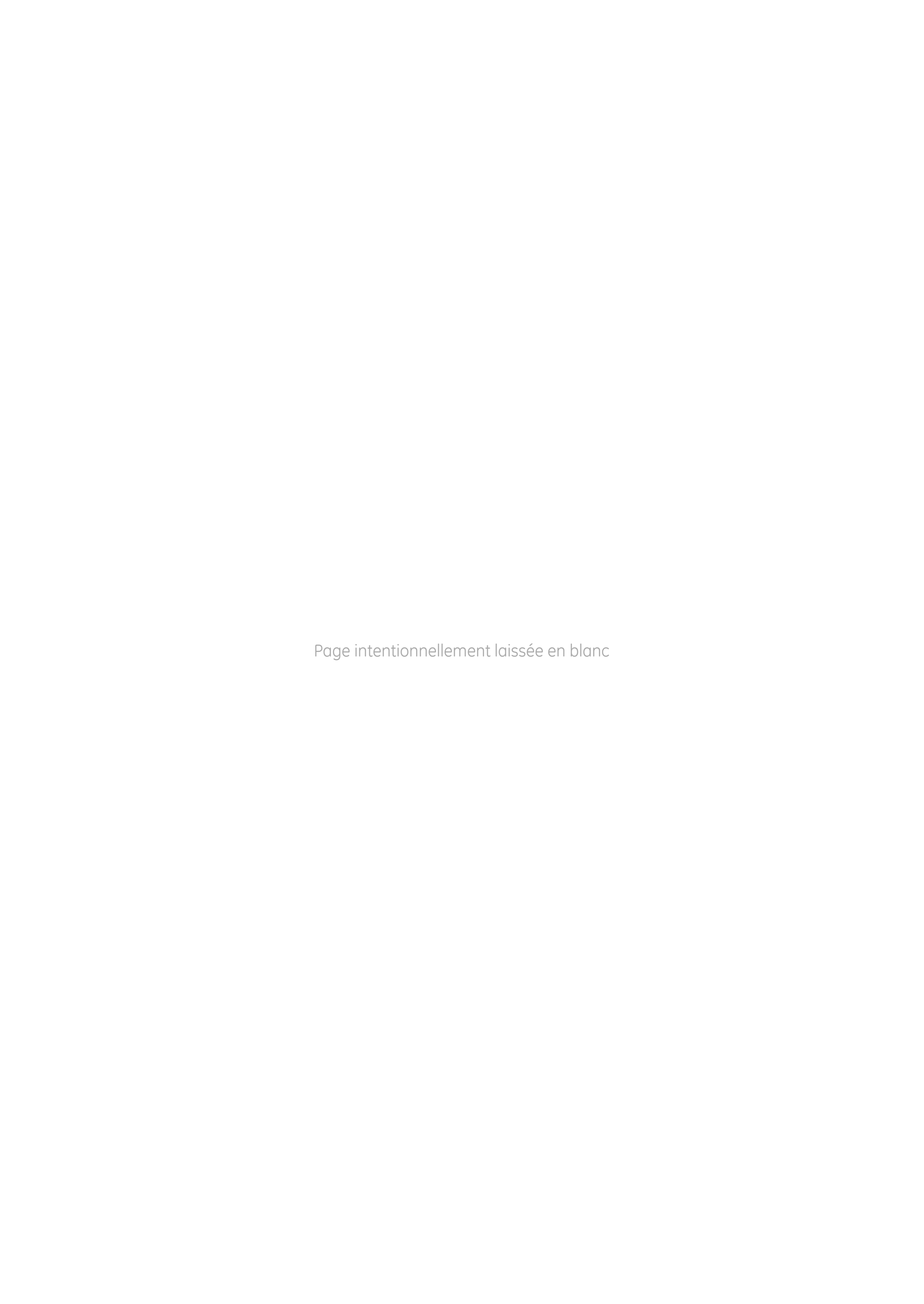
Pour recevoir un numéro d'autorisation de retour ou un numéro d'entretien, veuillez appeler le soutien technique local ou le service à la clientèle.

DOC1149544/28-9800-27 AC 05/2014

7.4 Traductions des accessoires et des consommables

Nom du produit en Anglais	Traduction
Amersham WB labeling buffer	tampon de marquage
Amersham WB loading buffer	tampon de chargement
Amersham WB molecular weight markers	marqueurs des masse moléculaire
Amersham WB gel card 14, 8-18%	plaque de gel
Amersham WB gel card 14, 13.5%	plaque de gel
Amersham WB buffer strip	bandelette de tampon
Amersham WB PVDF card	plaque PVDF
Amersham WB transfer paper	papier de transfert
Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5	Cy3/Cy5 de chèvre anti-lapin
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5	Cy3/Cy5 de chèvre anti-souris
Amersham WB paper comb	peigne en papier
Amersham WB buffer strip holder	support de bandelette de tampon
Amersham WB transfer holder	support de transfert
Amersham WB sponge	éponge
Amersham WB membrane adapter	adaptateur de membrane
Amersham WB drying holder	support de séchage

Index



Page intentionnellement laissée en blanc



Page intentionnellement laissée en blanc

Pour les coordonnées des bureaux locaux, consulter www.gelifesciences.com/contact

GE Healthcare UK Limited
Amersham Place
Little Chalfont
Buckinghamshire, HP7 9NA
Royaume-Uni

www.gelifesciences.com

Première publication : Mars 2014

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden

GE Healthcare Europe GmbH
Munzinger Strasse 5, D-79111 Freiburg, Germany

GE Healthcare Bio-Sciences Corp.
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Japan Corporation
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan



29-0214-77 AE 03/2015 a24